

specimen opdrogen aangezien dit een ogenschijnlijk specifieke kleuring veroorzaakt.

10.3. HET OBJECTGLAASJE SPOELEN

Spoel zorgvuldig af met PBS met behulp van een knijpfles. Richt de PBS-stroom niet direct op de wells. Kantel het objectglaasje omlaag en laat de PBS over het objectglaasjes stromen, boven de wells, waardoor de PBS aan de onderste rand van het objectglaasje kan wegstromen. Was het objectglaasje voorzichtig 5 minuten lang in een schuddend bad met PBS. Voer de PBS af en laat het objectglaasje bij kamertemperatuur tegen de lucht drogen (15-30 °C).

10.4. ANTI-MUIS FITC-CONJUGAAT TOEVOEGEN

Voeg aan elk specimenwell 25µL FITC-reagens toe en aan elke well van het controle-objectglaasje 20µL FITC-reagens. Zorg ervoor dat het reagens het volledige oppervlak van elke well bedekt. Bij controle-objectglaasjes met wells met een diameter van minder dan 6mm verdient het aanbeveling om 20µL reagens te gebruiken.

10.5. TWEEDE INCUBATIE

Incubeer de objectglaasjes met FITC-reagens gedurende **15 minuten** bij **37°C** in een **vochtige kamer**. Laat het reagens **niet** op het specimen opdrogen aangezien dit een ogenschijnlijk specifieke kleuring veroorzaakt.

10.6. HET OBJECTGLAASJE SPOELEN

Spoel zorgvuldig af met PBS met behulp van een knijpfles. Richt de PBS-stroom niet direct op de wells. Kantel het objectglaasje omlaag en laat de PBS over het objectglaasje stromen, boven de wells, waardoor de PBS aan de onderste rand van het objectglaasje kan wegstromen. Was het objectglaasje voorzichtig 5 minuten lang in een schuddend bad met PBS. Voer de PBS af en laat het objectglaasje bij kamertemperatuur tegen de lucht drogen (15-30 °C).

10.7. PREPARATIEVLOEISTOF TOEVOEGEN

Voeg één druppel preparatievloeistof toe aan het midden van elke well en plaats een dekglasje op de preparatievloeistof en het specimen. Zorg er daarbij voor dat er geen luchtbelln worden vastgehouden.

10.8. HET OBJECTGLAASJE AFLEZEN

Controleer alle oppervlakken van de wells met het gekleurde specimen met een epifluorescentiemicroscop. Zoals beschreven in paragraaf 11 dient fluorescentie zichtbaar te zijn bij een vergroting van x200-x500. (Voor optimale resultaten dienen de objectglaasjes onmiddellijk na de kleuring te worden gecontroleerd, maar zij kunnen gedurende maximaal 24 uur bij 2-8°C in het donker worden bewaard.)

Indien een positief screeningresultaat wordt verkregen (zie Paragraaf 11.2) kan een specifieke identificatie van het aanwezige virus worden uitgevoerd op een bijkomende bereiding van een objectglasje met 8 wells (zie Paragraaf 11) met afzonderlijke IMAGEN reagentia voor directe immunofluorescentie, vermeld in Paragraaf 6.1.

11. INTERPRATIE VAN DE RESULTATEN

11.1. CONTROLES

11.1.1 Controle-objectglasje met positieve wells

Indien de positieve wells op het controle-objectglasje zijn gekleurd en worden bekeken zoals beschreven in paragraaf 10 dienen zij cellen met een intracellulair appelgroen cytoplasma en/of nucleair fluorescentiecontrast tegen een achtergrond van rood materiaal te tonen. Positieve controle-objectglasjes dienen te worden gebruikt om te controleren of de kleuringsprocedure correct is uitgevoerd.

11.1.2 Controle-objectglasje met negatieve wells

Indien negatieve wells op het controle-objectglasje zijn gekleurd en worden bekeken zoals beschreven in paragraaf 10 dienen zij cellen zonder intracellulaire appelgroene fluorescentie te tonen. Enkel een rode achtergrondkleuring is zichtbaar.

11.2. KLINISCHE SPECIMENS

11.2.1 Zichtbaarheid van viraal geïnfecteerde cellen

Gekleurde geïnfecteerde cellen tonen een appelgroen cytoplasma en/of nucleaire fluorescentie. Niet-geïnfecteerde cellen kleuren rood met Evans blue-achtergrondkleuring.

11.2.2 Interpretatie

Er wordt een positieve diagnose gesteld indien één of meer cellen in het gefixeerde, gekleurde specimen het typische fluorescentiepatroon toont zoals beschreven in Paragraaf 11.2.1.

Er wordt een negatieve diagnose gesteld indien gefixeerde, gekleurde specimens geen fluorescentie weergeven met het screeningreagens.

Voor direct gekleurde nasofaryngeale aspiraatspecimens moeten er ten minste 20 niet-geïnfecteerde (cilinder) epitheelcellen van de ademhalingswegen worden waargenomen bij elk welloppervlak van het objectglasje alvorens een negatief resultaat wordt gemeld. Zie Paragraaf 11.2.3 indien er onvoldoende cellen aanwezig zijn.

11.2.3 Onvoldoende cellen

Indien er onvoldoende cellen op het objectglasje aanwezig zijn, moet de rest van het klinische specimen gedurende 10 minuten bij 380g en bij kamertemperatuur (15-30°C) worden gecentrifugeerd. Resuspender een kleinere hoeveelheid (ongeveer 50µL) PBS alvorens opnieuw op elk welloppervlak te verdelen (25µL). Het is ook mogelijk een nieuw klinisch specimen te vragen.

11.2.4 Kwaliteitscontrole

Telkens er IMAGEN Respiratory Screen reagentia worden gebruikt, moet er een positief en negatief controle-objectglasje worden gekleurd en gecontroleerd.

De met de kit geleverde controle-objectglasjes dienen als geschikte controle om bij geïnfecteerde cellen de correcte werking van de kleuringstechniek en de reactiviteit van het reagens te bepalen met RSV, influenza A virus, influenza B virus, parainfluenza virus 1, 2, 3, en adenovirus.

11.2.5 Resultaten rapporteren

De volgende richtlijnen worden aanbevolen om resultaten te rapporteren:

Positief resultaat, zoals vermeld in 11.2.2:

Vermoedelijk positief voor één of meer van RSV, influenza A virus, influenza B virus, parainfluenza virus 1, 2, 3, en adenovirus. Cultuurisolatie en specifieke identificatie volgen nog. Zie Paragraaf 11.4 voor specifieke identificatie.

Negatief resultaat, zoals vermeld in 11.2.2:

Vermoedelijk negatief voor RSV, influenza A virus, influenza B virus, parainfluenza virus 1, 2, 3, en adenovirus. Bevestiging van cultuur volgt nog.

11.3. CELCULTUUR BEVESTIGEN

11.3.1 Zichtbaarheid van viraal geïnfecteerde cellen

Geïnfecteerde cellen tonen een intracellulaire, nucleaire en/of cytoplasmische appelgroene fluorescentie en moeten als positief worden genoteerd. De achtergrond van niet-geïnfecteerde cellen kleurt rood, met Evans blue-achtergrondkleuring.

11.3.2 Interpretatie van de resultaten

Een positieve diagnose wordt gesteld indien ten minste één gefixeerde, gekleurde cel na de kleuringsprocedure het

fluorescentiepatroon vertoont zoals beschreven in Paragraaf 11.3.1.

Er wordt een negatieve diagnose gesteld indien gefixeerde, gekleurde specimens geen fluorescentie weergeven na kleuring met de reagentia.

Ten minste 50 niet-geïnfecteerde cellen van de celcultuur die wordt getest, moeten binnen elk welloppervlak van het objectglasje zichtbaar zijn alvorens een negatief resultaat wordt gerapporteerd. Zie Paragraaf 11.3.4 indien er onvoldoende cellen aanwezig zijn.

11.3.3 Resultaten rapporteren

De volgende richtlijnen worden aanbevolen om resultaten te rapporteren:

Positief resultaat, zoals vermeld in 11.3.2:

Positief voor één of meer van RSV, influenza A virus, influenza B virus, parainfluenza virus 1, 2, 3, en adenovirus. Specifieke identificatie volgt nog. Zie Paragraaf 11.4 voor specifieke identificatie

Negatief resultaat, zoals vermeld in 11.3.2:

Negatief voor RSV, influenza A virus, influenza B virus, parainfluenza virus 1, 2, 3, en adenovirus

11.3.4 Onvoldoende cellen

Indien er onvoldoende cellen op de bereiding van het objectglasje aanwezig zijn, moet de rest van het celcultuurspecimen gedurende 10 minuten bij 200g en bij kamertemperatuur (15-30°C) worden gecentrifugeerd. Resuspender een kleinere hoeveelheid (ongeveer 50µL) PBS alvorens opnieuw op elk welloppervlak te verdelen (25µL).

Het is ook mogelijk een nieuw specimen opnieuw te inoculeren op verse cellmonolayers en de viruscultuur te herhalen.

11.4. SPECIFIEKE IDENTIFICATIE VAN VIRUS VAN DE ADEMHALINGSWEGEN

De specifieke identificatie van het aanwezige virus van de ademhalingswegen kan worden uitgevoerd door de positieve resultaten te bevestigen met IMAGEN directe immunofluorescentie (zie Paragraaf 6.1; zie Paragraaf 9 voor de bereiding van de objectglasjes).

12. BEPERKINGEN BIJ DE WERKING

12.1. Gebruik uitsluitend de geleverde preparatievloeistof.

12.2. Alhoewel de in deze test gebruikte monoklonale antilichamen tegen prototypestammen zijn gekweekt en op basis van hun reactiviteit tegenover een geconserveerde epitooп zijn geselecteerd, is het mogelijk dat zij geen virusstammen detecteren die een antigene wijziging hebben ondergaan in de structuur van het doelwitepitooп of nieuwe stammen van het virus.

12.3. Het is mogelijk dat het screeningreagens en het reagens voor de negatieve controle de *Staphylococcus aureus* stammen met proteïne A op specifieke wijze kleuren vanwege de niet-immuun interactie van proteïne A met het Fc-gebied van de monoklonale antilichamen. Dit is bij andere monoklonaal en polyklonaal gebaseerde fluorescentie-assays waargenomen²⁰.

12.4. De zichtbaarheid van het verkregen fluorescentiebeeld kan verschillen, afhankelijk van het gebruikte type microscoop en lichtbron.

12.5. Het verdient aanbeveling 25µL reagens te gebruiken om een welloppervlak met een diameter van 6mm te bedekken. Een kleiner volume kan het bedekken van het specimenoppervlak bemoeilijken en kan de gevoeligheid doen dalen.

12.6. Alle reagentia worden in vaste gebruiksconcentraties geleverd. De werking van de test wordt beïnvloed indien de reagentia worden gewijzigd of niet onder de aanbevolen omstandigheden, zoals vermeld in Paragraaf 5, worden bewaard.

12.7. IMAGEN Respiratory Screen kan niet worden gebruikt om virussen van de ademhalingswegen specifiek te identificeren. Voor een specifieke identificatie moeten positieve specimens verder worden getest met afzonderlijke IMAGEN reagentia voor directe immunofluorescentie (zie Paragraaf 6).

12.8. Het niet kunnen detecteren van een virus door directe tests of door bevestiging door middel van een celcultuur kan het resultaat zijn van factoren als monstername op een ongeschikt tijdstip van de aandoening, het niet op de juiste wijze nemen en/of behandelen van een specimen, mislukte celcultuur, enz. Een negatief resultaat sluit de mogelijkheid van een virusinfectie niet uit.

12.9. De interpretatie van de testresultaten dient te gebeuren in combinatie met de informatie van epidemiologische onderzoeken, de klinische beoordeling van de patiënt en andere diagnostische procedures.

12.10. Afhankelijk van hoe het controleglasje is vervaardigd, kan er soms materiaal met elkaar vermengd raken (bijv. een paar positieve cellen in de negatieve well.). Het objectglasje kan nog steeds dienst doen als een geschikt controlemiddel waarmee de juiste prestatie van kleuringstechniek en reactiviteit van de reagens met RSV, influenza A en B, parainfluenzavirus 1, 2 of 3, en adenovirus in geïnfecteerde cellen kan worden bepaald.

13. VERWACHTE WAARDEN

Het detectiecijfer voor virussen van de ademhalingswegen wordt beïnvloed door geografische, klimatologische en seizoensgebonden factoren alsmede door demografische factoren als overbevolking, socio-economische toestand en de voeding. Bovendien kunnen alle factoren met betrekking tot de kwaliteit van het specimen (de geteste specimensoort, het tijdstip van monstername tijdens de duur van de infectie, het behandelen en bewaren van specimens met inbegrip van de gebruikte procedures om smears te bereiden) het welslagen van een diagnostische test door middel van directe detectietechnieken beïnvloeden.

Over het algemeen komen virussen van de ademhalingswegen wereldwijd voor en kunnen zij een sporadische infectie, een kleine uitbraak, een epidemie of incidenteel een pandemie veroorzaken waarbij nieuwe antigene varianten van het virus ontstaan. Ondanks het seizoensgebonden optreden van een virusinfectie van de ademhalingswegen is het mogelijk dat tijdens een seizoen virussen (b.v. parainfluenza virus 1 en 2, en influenza B virus) niet kunnen worden geïsoleerd of gedetecteerd vanwege de lage prevalentiecijfers.

Respiratory syncytial virus wordt volgens seizoen geassocieerd met de significante uitbraak van een infectie van de bovenste en onderste ademhalingswegen. Zuigelingen lopen de eerste zes maanden van hun leven het hoogste risico, net zoals personen met een verminderde weerstand het hoogste risico lopen. Ongeveer 50% van alle zuigelingen krijgen tijdens hun eerste levensjaar een RSV-infectie²¹. RSV neemt 20% van alle infecties van de ademhalingswegen voor zijn rekening bij seizoensgebonden luchtweginfecties²¹.

Het **influenza A virus** en het **influenza B virus** kunnen een uitbraak van een infectie veroorzaken. De infectiecijfers van

het influenza A virus worden het sterkst beïnvloed door de immunostatus van een populatie in verband met circulerende stammen. Wanneer een hoge mate van immuniteit wordt bereikt, kan influenza tot 15% van de infecties van de ademhalingswegen voor zijn rekening nemen. Maar bij het ontstaan van nieuwe stammen, waarvoor er weinig of geen aangeboren immuniteit is, kan influenza meer dan 50% van alle infecties van de Ademhalingswegen voor zijn rekening nemen²².

Bij het influenza B virus vinden we de hoogste cijfers meestal bij schoolgaande kinderen²³.

Adenovirussen kunnen voor 5% van de acute infecties van de ademhalingswegen verantwoordelijk zijn bij kinderen jonger dan 4 jaar en voor 10% van alle infecties van de ademhalingswegen bij kinderen opgenomen in het ziekenhuis²². Soms zijn adenovirussen verantwoordelijk voor kleine plaatselijke epidemieën van een acute aandoening van de ademhalingswegen bij jonge volwassenen, voornamelijk bij degenen die krap wonen.

Infecties van het **parainfluenza virus** nemen tot 20% van de infecties van de ademhalingswegen voor hun rekening bij kinderen die 2–4 jaar oud zijn die ernstige symptomen kunnen vertonen zoals laryngotracheobronchitis (kroep)²⁴. Bij oudere kinderen en volwassenen kunnen uitbraken van een infectie, voornamelijk met het parainfluenza virus 3, optreden. Al vroeg in hun leven wordt meer dan 90% van de zuigelingen geïnfecteerd met het parainfluenza virus en symptomatische herinfecties komen veel voor⁸. Tijdens de lente en de zomermaanden kan een uitbraak van een infectie door het parainfluenza virus 3 voorkomen.

De directe detectie van virussen van de ademhalingswegen in epitheelcellen van de ademhalingswegen geven snelle, klinisch relevante diagnostische informatie wanneer ofwel de overlevingskans van het virus of de afwezigheid van mogelijkheden voor een viruscultuur het welslagen van de diagnose beperken.

Tijdens de winter van 1994–95 werden de volgende prevalentiecijfers genoteerd door de drie ziekenhuislaboratoria die de klinische evaluatie uitvoerden.

In een kinderziekenhuis in het westelijke deel van de staat New York, VS werd RSV geïdentificeerd door directe immunofluorescentie van het specimen bij 43,6% (478/1096) van de specimens van de ademhalingswegen, het influenza A virus werd geïdentificeerd door directe immunofluorescentie van het specimen en celcultuurisolatie bij 3,1% (34/1096) van de specimens van de ademhalingswegen en het influenza B virus werd gedetecteerd door directe immunofluorescentie en celcultuurisolatie bij 1,1% (12/1096) van de specimens van de ademhalingswegen. Het adenovirus werd geïdentificeerd door celcultuurisolatie bij 4,4% (39/883) van de specimens van de ademhalingswegen en een parainfluenza virus werd geïdentificeerd door celcultuurisolatie bij 2,9% (26/883) van de specimens van de ademhalingswegen (inclusief 2 specimens met het parainfluenza virus 1, 3 met het parainfluenza virus 2 en 21 met het parainfluenza virus 3).

In een ziekenhuis in het noordwesten van het VK met een gevarieerde patiëntenpopulatie werd RSV geïdentificeerd door directe immunofluorescentie van het specimen bij 49,68% (467/940) van de specimens van de ademhalingswegen. Het influenza-B-virus werd geïdentificeerd door directe immunofluorescentie van het specimen of celcultuurisolatie bij 1,7% (16/940) van de specimens van de ademhalingswegen. Het adenovirus werd geïdentificeerd door directe immunofluorescentie van het specimen of celcultuurisolatie bij 1,17% (11/940) van de specimens van de ademhalingswegen. Het parainfluenza virus 1 werd geïdentificeerd door directe immunofluorescentie van het specimen of celcultuurisolatie bij 0,1% (1/940) van de specimens van de ademhalingswegen.

In een ziekenhuis in het zuidwesten van het VK met een gevarieerde patiëntenpopulatie werd RSV geïdentificeerd door directe immunofluorescentie van het specimen bij 10,6% (195/1 840) van de specimens van de ademhalingswegen. Het influenza B virus werd geïdentificeerd door directe immunofluorescentie van het specimen of celcultuurisolatie bij 3,04% (56/1 840) van de specimens van de ademhalingswegen. Het adenovirus werd geïdentificeerd door celcultuurisolatie bij 1,2% (22/1 840) van de specimens van de ademhalingswegen en een parainfluenza virus werd geïdentificeerd door directe immunofluorescentie van het specimen of celcultuurisolatie bij 1,14% (21/1 840) van de specimens van de ademhalingswegen. Naast de bovenvermelde virussen werden de volgende virussen geïsoleerd uit de specimens van de ademhalingswegen: picornavirus 1% (18/1 840), cytomegalovirus 0,38% (7/1 840), rinovirus 1,7% (32/1 840), Herpes simplex virus type 1 1,03% (19/1 840) en Herpes simplex virus type 2 0,5% (1/1 840).

14. SPECIFIEKE EIGENSCHAPPEN

14.1. KLINISCHE ONDERZOEKEN

IMAGEN Respiratory Screen werd geëvalueerd voor direct gebruik bij twee centra voor klinisch onderzoek in het VK (één in het noordoosten van het land en het andere in het zuidwesten) en één onderzoeksentrum in de staat New York, VS. De test werd op specimens van de ademhalingswegen uitgevoerd, verzameld bij kinderen en volwassenen die met symptomen van een infectie van de ademhalingswegen in het ziekenhuis waren opgenomen. De test werd ook geëvalueerd voor de detectie van virusantigeen in celculturen, geïnoculeerd met specimens van de ademhalingswegen.

Tijdens de periode winter 1994–lente 1996, werden er klinische specimens verzameld en de onderzoeksentra vergeleken de IMAGEN Respiratory Screen test met de gebruikte standaardmethoden en een in de handel verkrijgbare indirecte immunofluorescentietest, bestaande uit een screeningreagens en afzonderlijke typeringsreagentia. Voor deze evaluaties werden er verse klinische specimens en ingevroren specimens gebruikt en daarnaast werden bewaarde ingevroren specimens van 1993–94 getest.

De onderzoeksentra voerden directe tests uit op 343 klinische specimens en op 87 celcultuurmonolayers om de aanwezigheid van het virus te bevestigen. Voor directe specimens werd IMAGEN Respiratory Screen geëvalueerd ten opzichte van een in de handel verkrijgbare indirecte immunofluorescentie-screeningtest en viruscultuur. Voor celculturen werd IMAGEN Respiratory Screen geëvalueerd ten opzichte van een in de handel verkrijgbare indirecte immunofluorescentie-screeningtest en ofwel haemadsorptieremming, virusneutralisatie of directe immunofluorescentietest.

14.2. KLINISCHE WERKING

14.2.1 Directe specimens

In totaal werden er 343 nasofaryngeale aspiraten geëvalueerd bij de drie onderzoeksentra. De specimens omvatten:

144	specimens positief voor RSV
11	specimens positief voor influenza A
5	specimens positief voor influenza B
19	specimens positief voor parainfluenza virus 1
4	specimens positief voor parainfluenza virus 2
26	specimens positief voor parainfluenza virus 3

8	specimens positief voor adenovirus
141	negatieve specimens
5	specimens met co-infecties:
2	co-infecties van RSV en parainfluenza 1
1	co-infectie van RSV en adenovirus
1	co-infectie van adenovirus en influenza B
1	co-infectie van adenovirus en parainfluenza 3

Tabel 14.2.1 geeft de resultaten van IMAGEN Respiratory Screen en een in de handel verkrijgbare indirecte immunofluorescentie-screeningtest, vergeleken met virusisolatie bij directe specimens van de ademhalingswegen. In vergelijking met de standaardmethode werd voor IMAGEN Respiratory Screen een correlatie van 94,1% (17/337) verkregen. In vergelijking met virusisolatie was de gevoeligheid van de test 96,7% (205/212).

Tabel 14.2.1 Vergelijking van IMAGEN Respiratory Screen en een in de handel verkrijgbare indirecte immunofluorescentie-screeningtest met virusisolatie voor directe specimens van de ademhalingswegen

		IMAGEN Respiratory Screen	In de handel verkrijgbare IIF test
		+	-
		+	-
+	-	205 ¹ 13 ²	7 ^c 112
207 ¹ 15 ^d	5 ^c 110		
% relatieve gevoeligheid		96,7 (205/212)	97,6 (207/212)
95% betrouwbaarheidsintervallen		(94-99%)	(95-100%)
% relatieve gevoeligheid		89,6 (112/125)	88,0 (110/125)
95% betrouwbaarheidsintervallen		(83-94%)	(81-93%)
% correlatie		94,1 (317/337)	94,1 (317/337)
95% betrouwbaarheidsintervallen		(91-97%)	(91-97%)

- Virusisolatie werd uitgevoerd in Hep-2, A549, primaire niercellijn van de resusaap, MK, HEL, RK13 of G293 cellijnen en werd bevestigd door specifieke indirecte immunofluorescentie en ofwel haemadsorptieremming, virusneutralisatie of directe immunofluorescentietest.
- Dertien specimens, ook positief door directe tests van de specimens door middel van zowel IMAGEN en in de handel verkrijgbare typeringstests (zie tabel 14.2.4), inclusief:

RSV

Influenza A

Para-influenza 1

Adenovirus

2

- Twee specimens positief voor het adenovirus, twee specimens positief voor para-influenza 2, drie specimens positief voor para-influenza 3 (zie tabel 14.2.4).
- Vijftien specimens, inclusief dertien vermeld in voetnootb en twee andere specimens, uitsluitend positief door de in de handel verkrijgbare IIF (zie tabel 14.2.4).
- Vijf specimens negatief door de in de handel verkrijgbare IIF, inclusief één influenza A, twee para-influenza virus 2, één para-influenza virus 3 en één adenovirus (zie tabel 14.2.4).

Tabel 14.2.2 toont een vergelijking van IMAGEN Respiratory Screen met een in de handel verkrijgbare indirecte immunofluorescentie-screeningtest op specimens van nasofaryngeale aspiraten bij elk van de onderzoeksentra. Bij Centrum 1 en 2 waren alle geteste specimens (met uitzondering van 7 specimens bij Centrum 2) als ingevroren specimens bewaard. Bij Centrum 3 waren 121 specimens vers, binnen de 24 uur na monstername, getest en 68 specimens werden na invriezen getest.

Tabel 14.2.2 Vergelijking van IMAGEN Respiratory Screen met een in de handel verkrijgbare indirecte immunofluorescentie-screeningtest (Bartels VRK) op specimens van de ademhalingswegen

		In de handel verkrijgbare IIF test	
		+	-
Onderzoeksentrum 1 (zuidwesten van VK) n = 74	IMAGEN Respiratory + Screen	49	0
		-	0
Onderzoeksentrum 2 (noordoosten van VK) n = 80	IMAGEN Respiratory + Screen	46	0
		-	4 ^a
Onderzoeksentrum 3 (staat New York, VS) n = 189	IMAGEN Respiratory + Screen	126	1 ^f
		-	1 ^g

- Eén specimencultuur positief voor het influenza A virus die ook in zowel de directe test van het specimen als de cultuur door IMAGEN Influenza A reagens werd getypeerd.
- Omvat één specimen van Centrum 2 en één specimen van Centrum 3 die enkel als positief werden genoteerd bij de in de handel verkrijgbare IIF screeningtest.

Tabel 14.2.3 toont een samenvatting van de gegevens van alle drie onderzoeksentra waarbij IMAGEN Respiratory Screen wordt vergeleken met de in de handel verkrijgbare indirecte immunofluorescentie-screeningtest op specimens van nasofaryngeale aspiraten.

Tabel 14.2.3 Samenvatting van de vergelijking van IMAGEN Respiratory Screen met een in de handel verkrijgbare indirecte immunofluorescentie-screeningtest (Bartels VRK) op specimens van de ademhalingswegen

		In de handel verkrijgbare IIF test	
		+	-
IMAGEN Respiratory Screen		221 ¹ 5 ^a	1 ^f 116
Relatieve gevoeligheid		97,8% (221/226)	
95% betrouwbaarheidsintervallen		(95-99%)	
Relatieve gevoeligheid		99,1% (116/117)	
95% betrouwbaarheidsintervallen		(95-100%)	
% correlatie		98,3% (337/343)	
95% betrouwbaarheidsintervallen		(96-99%)	

- Eén specimencultuur positief voor het influenza A virus die ook in zowel de directe test van het specimen als de cultuur door IMAGEN Influenza A reagens werd getypeerd.
- Omvat één specimen van Centrum 2 en één specimen van centrum 3 die enkel als positief werden genoteerd bij de in de handel verkrijgbare IIF screeningtest.

Tabel 14.2.4 Gedetailleerde resultaten van specimens waarnaar verwezen in de voetnoten bij tabel 14.2.1 tot 14.2.3

Voetnoot-referentie	Specimen nr.	Cultuur-resultaat	IMAGEN Screen resultaat	IMAGEN Typing resultaat	In de handel verkrijgbare IIF screen-test	In de handel verkrijgbare IIF typerings-test
B	1	Negatief	Positief	Adenovirus	Positief	Adenovirus
B	2	Negatief	Positief	Adenovirus	Positief	Negatief
B	3	Negatief	Positief	Influenza A	Positief	Influenza A
B	4	Negatief	Positief	Influenza A	Positief	Influenza A
B	5	Negatief	?Positief	Influenza A	Positief	Influenza A
B	6	Negatief	Positief	RSV	Positief	RSV
B	7	Negatief	Positief	RSV	Positief	RSV
B	8	Negatief	Positief	RSV	Positief	RSV

B	9	Negatief	Positief	RSV	Positief	RSV
B	10	Negatief	Positief	RSV	Positief	RSV
B	11	Negatief	Positief	RSV	Positief	RSV
B	12	Negatief	Positief	RSV	Twijfelachtig	RSV
B	13	Negatief	Positief	Parainfluenza 1	Positief	Parainfluenza 1
C en E	14	Parainfluenza 3	Negatief	Negatief	Negatief	Negatief
C en E	15	Adenovirus 2	Negatief	Niet getest	Negatief	Niet getest
C en E	16	Parainfluenza 2	Negatief	Geen diagnose mogelijk	Negatief	?Parainfluenza 2
C en E	17	Parainfluenza 2	Negatief	Negatief	Negatief	Geen diagnose mogelijk
C	18	Parainfluenza 3	Negatief	?Parainfluenza 3	Positief	?Parainfluenza 3
C	19	Parainfluenza 3	Negatief	Parainfluenza 3	Positief	Parainfluenza 3
C	20	Adenovirus 4	Negatief	Negatief	Positief	Adenovirus
D en G	21	Negatief	Negatief	?Influenza A	Positief	?Influenza A
D en G	22	Negatief	Negatief	Negatief	Positief	Negatief
E en F	23	Influenza A	Positief	Influenza A	Negatief	Influenza A

14.2.2 Cultuur bevestigen

De onderzoekscentra testten IMAGEN Respiratory Screen op virusisolaten van klinische specimens en bewaarde virusstammen. De klinische specimens werden voornamelijk tijdens de winter van 1994-95 verzameld en de onderzoekscentra vergeleken de IMAGEN Respiratory Screen test met de standaardmethoden. Virusisolatie werd uitgevoerd door middel van Hep-2, MRC-5 of RMK-cellen en isolaten werden geïdentificeerd en bevestigd door middel van haemadsorptieremming, virusneutralisatie of directe immunofluorescentie.

In totaal werden er 87 culturen getest, inclusief 7 culturen positief voor RSV, 10 positief voor influenza A, 15 positief voor influenza B, 6 positief voor parainfluenza 1, 8 positief voor parainfluenza 2, 5 positief voor para-influenza 3, 9 positief voor adenovirus en 27 negatieve culturen.

Tabel 14.2.5 Vergelijking van IMAGEN Respiratory Screen met virusisolatie en een in de handel verkrijgbare IIF test (Bartels VRK) om de celcultuur te bevestigen

		In de handel verkrijgbare IIF test		Virusneutralisatie	
		+	-	+	-
Onderzoekscentrum 1 (zuidwesten van VK) n = 32	I M A G E N + Respiratory - Screen	17 0	1 ^a 14	18 0	0 14
Onderzoekscentrum 3 (staat New York, VS) n = 52	I M A G E N + Respiratory - Screen	39 0	0 13	39 0	0 13
O x o i d L t d n = 3	I M A G E N + Respiratory - Screen	3 0	0 0	3 0	0 0

a Specimen waaruit RSV werd geïsoleerd en door cultuur werd getypeerd

Tabel 14.2.6 Samenvatting van de vergelijking van IMAGEN Respiratory Screen met virusisolatie en een in de handel verkrijgbare IIF test (Bartels VRK) om de celcultuur te bevestigen

		In de handel verkrijgbare IIF test		Virusneutralisatie	
		+	-	+	-
IMAGEN Respiratory Screen	+ -	59 0	1 ^a 27	60 0	0 27
% relatieve gevoeligheid		100(59/59)		100 (60/60)	
95% betrouwbaarheidsintervallen		(94-100%)		(94-100%)	
% relatieve gevoeligheid		96,4(27/28)		100 (27/27)	
95% betrouwbaarheidsintervallen		(82-100%)		(87-100%)	
% correlatie		98,9 (86/87)		100 (87/87)	
95% betrouwbaarheidsintervallen		(94-100%)		(96-100%)	

a Specimen waaruit RSV werd geïsoleerd en door cultuur werd getypeerd

14.3. KRUISREACTIVITEIT

De in tabel 14.3.1 vermelde micro-organismen werden met IMAGEN Respiratory Screen getest en vertoonden geen kruisreactiviteit. Er werden onderzoeken naar de kruisreactiviteit uitgevoerd op bereidingen van objectglaasjes van stockculturen of recente microbiële isolaten.

Tabel 14.3.1 Micro-organismen getest met IMAGEN Respiratory Screen die geen reactie bleken tevertonen

Micro-organisme	Bron
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	NCTC 10116 neerslag van cultuur van vloeibaar groeimedium ²
<i>Bordetella pertussis</i> ¹	Chocolade agar ³
<i>Branhamella catarrhalis</i> ¹	Chocolade agar ³
<i>Candida albicans</i> ¹	Fungaal medium ³
<i>Chlamydia pneumoniae</i> ¹	Commerciële bereiding ⁴
<i>Chlamydia psittaci</i> ¹	Commerciële bereiding ⁴
<i>Chlamydia trachomatis</i> A-K, LGV1-LGV3 ¹	Commerciële bereiding ⁴
<i>Coxsackie-virus</i> A9	Commerciële bereiding ⁵
<i>Coxsackie-virus</i> B1, B2, B3, B4, B5	Stockstammen ⁵
<i>Cytomegalovirus</i>	Humaan klinisch isolaat ⁵
<i>Echovirus</i> 9, 11, 19, 22	Humaan klinisch isolaat ⁵
<i>Epstein-Barr-virus</i>	Commerciële bereiding gebruikt bij routinematige serologische tests ⁵
<i>Herpes-simplex-virus type 1 en 2</i>	Commerciële bereiding ⁵
<i>Legionella pneumophila</i>	Serogroep 1. Geformaliseerde yolk sac. Commerciële bereiding gebruikt bij routinematige serologische tests ⁴
<i>Mycoplasma arginini</i>	NCTC 10129 neerslag van cultuur van vloeibaar groeimedium ²
<i>Mycoplasma hominis</i>	NCTC 10111 neerslag van cultuur van vloeibaar groeimedium ²
<i>Mycoplasma hyorhinus</i>	NCTC 10130 neerslag van cultuur van vloeibaar groeimedium ²
<i>Mycoplasma orale</i>	NCTC 10112 neerslag van cultuur van vloeibaar groeimedium ²
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	NCTC 10119 neerslag van cultuur van vloeibaar groeimedium ²
<i>Mycoplasma salivarium</i>	NCTC 10113 neerslag van cultuur van vloeibaar groeimedium ²
<i>Neisseria cinerea</i> 1	Bloedagar ³
<i>Neisseria lactamica</i> 1	Bloedagar ³
<i>Neisseria meningitidis</i> A, B, C ¹	Bloedagar ³
<i>Neisseria perflava</i> ¹	Bloedagar ³
<i>Poliovirus type 1, 2 en 3</i>	Humane klinische isolaten ⁵
<i>Pneumocystis carinii</i>	Commerciële bereiding gebruikt bij routinematige serologische tests ⁴
<i>Rinovirus</i>	Humaan klinisch isolaat ⁵
<i>Streptococcus</i> groep A, B, C, D, F en G ²	Columbia agar ³

- Gegevens, verworven bij Oxoid (Ely) Ltd.
- Smears bereid uit vloeibare groeimediumculturen van drie dagen, gedurende 30 minuten bij 3000g gecentrifugeerd, gespoeld in PBS, geresuspendeerd in 100µL PBS en 15µL suspensie toegevoegd aan de wells van de objectglaasjes voor de microscoop.
- Melkachtige suspensies, bereid in PBS uit cultuurmedium, gecentrifugeerd, gespoeld, geresuspendeerd in 1mL PBS en 20µL suspensie toegevoegd aan de wells van de objectglaasjes voor de

microscoop.

4 In de handel verkrijgbare bereidingen voor objectglaasjes.

5 Smears bereid uit virusculturen in buisjes die 50% CPE vertonen, gespoeld, geresuspendeerd in 0,2mL PBS en 15µL suspensie toegevoegd aan de wells van de objectglaasjes voor de microscoop.

- REFERENZEN**
- Palumbo P.E. and Douglas Jr R.G. (1986)** Respiratory Tract Infections in S. Spector and G.J. Lancz (ed). Clinical Virology Manual. Elsevier Science Publishing Inc, New York, p 263-282.
- Ray C.G. and Minnich L.L. (1987)** Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. *J. Clin. Microbiol.* **25**: 355-357.
- Stansfield S.K. (1987)** Acute respiratory infections in the developing world: strategies for preventing treatment and control. *Pediatric Infectious Disease* **6**: 622-629.
- Gardner P.S., Turk D.C., Aherne W.A., Bird T., Holdaway M.D., Court S.D.M. (1967)** Deaths associated with respiratory tract infection in childhood. *British Medical Journal* **4**: 316-320.
- Mathur U., Bentley D.W., Hall C.B. (1980)** Concurrent respiratory syncytial virus and influenza A infections in the institutionalised elderly and chronically ill. *Ann Intern Med* **1**: 430-431.
- Purkiss D. (1983)** Parainfluenza infections in the elderly 1976-82. *PHLS Communicable Disease Report* **83/19**: 3.
- Zaroukian M.H., Leader I. (1988)** Community-acquired pneumonia and infection with respiratory syncytial virus. *American Journal Medical Science* **295**: 218-222.
- Welliver R. (1982)** Natural history of parainfluenza virus infection in childhood. *Journal of Pediatrics* **101**: 180-187.
- Martin A.J., Gardner P.S., and McQuillin J. (1978)** Epidemiology of respiratory viral infection among paediatric inpatients over a six year period in North East England. *The Lancet* ii: 1035-1038.
- Potter C.W. (1990)** Influenza. In Principles and Practice for Clinical Virology (eds A.J. Zuckerman et al). John Wiley and Sons Ltd, Chichester, pp 213-238.
- Murphy B.R. and Webster R.G. (1990)** Orthomyxoviruses in Virology (eds B.N. Fields and D.M. Kripe) Raven Press, New York, pp 1091-11523.
- Wadell G. (1990)** Adenoviruses. In Principles and Practice of Clinical Virology (eds A.J. Zuckerman et al). John Wiley and Sons Ltd. Chapter 4 iv, pp 267-287.
- Horwitz M.S. (1985)** Adenoviral diseases: In Virology (eds B.N. Fields et al). Raven Press, New York, Chapter 24, pp 477-495.
- Shaw M.W., Arden N.H. and Maassab H. (1992)** New aspects of Influenza viruses. *Clinical Microbiology Reviews* **5**: 74-92.
- Galbraith A.W. (1980)** Influenza – Recent developments in prophylaxis and treatment. *British Medical Bulletin* **41**: 381-385.
- Hall C.B., McBride J.T., Gala C.L., Hildreth S.W., Schnabel K.C. (1985)** Ribavirin treatment of respiratory syncytial viral infection in infants with underlying cardiopulmonary disease. *JAMA* **254**: 3047-3051.
- Gardner P.S. and McQuillin J. (1980)** Rapid virus diagnosis: Application of immunofluorescence (2nd Ed) Butterworth, London, pp 92-123.
- Hughes J.H., Mann D.R. and Hamparian V.V. (1988)** Detection of respiratory syncytial virus in clinical specimens by viral culture, direct and indirect immunofluorescence, and enzyme immunoassay. *J. Clin. Microbiol.* **26**: 588-591.
- Bartholoma N.Y. and Forbes B.A. (1989)** Successful use of shell vial centrifugation and 16 to 18 hour immunofluorescent staining for the detection of Influenza A and B in clinical specimens. *Am J Clin Pathol* **92**: 487-490.
- Krech T., Gerhard-Fsadni D., Hofmann N., Miller S.M. (1985)** In-terference of Staphylococcus aureus in the detection of *Chlamydia trachomatis* by monoclonal antibodies. *The Lancet*, 1161-1162.
- Tyeryar F.J. (1983)** Report of a workshop on Respiratory Syncytial Virus and Parainfluenza Viruses *Journal of Infectious Diseases* **148**: 588-598.”
- Caul E.O. (1986)** Personal communication (on file at Oxoid (Ely) Ltd).
- Chin D.Y., Mosley W.H., Poland J.D., Rush D., Belden E.A., Johnson O. (1963)** Epidemiologic Studies of Type B influenza in 1961-1962. *American journal of Public Health* **53**: 1068-1074
- McClean, D.M., Bannatyre, R.M. and Givan, K.F. (1967)** Myxovirus dissemination by air. *Canadian medical Association Journal* **89**: 1257-59

CE

X7852A Maart 2017

 OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

Neem voor al uw vragen contact op met de plaatselijke Oxoid-vestiging of –distributeur.

Vervanging Gebruiksaanwijzing (IFU’s) en alternatieve taalversies die beschikbaar zijn via via www.oxoid.com/IFU