

**No:** V4RVP  
**Kit Format:** 150 Tests



**Διαγνωστικό Σύμπλοκο για την ανίχνευση Αναπνευστικών Ιών**

Προσδιορισμός έμμεσου ανοσοφθορισμού για το συνολικό έλεγχο (screening) και ταυτοποίηση  
Του Αδενοϊού, του Ιού της Γρίπης Α και Β, του Ιού της Παραγρίπης 1, 2 και 3  
και του Αναπνευστικού Συγκυτιακού Ιού

**CE**

## **Πίνακας Περιεχομένων**

Προοριζόμενη Χρήση  
Εισαγωγή  
Αρχή του Προσδιορισμού  
Συστατικά του Διαγνωστικού Συνόλου  
    Παρεχόμενα Υλικά  
    Πρόσθετα Απαιτούμενα Υλικά  
Προφυλάξεις  
    Ασφάλεια  
    Διαδικαστικά  
Φύλαξη και Σταθερότητα  
Συλλογή και Προετοιμασία Δειγμάτων  
Διαδικασία του Προσδιορισμού  
Ερμηνεία των Αποτελεσμάτων  
Αναμενόμενες Τιμές  
Περιορισμοί Χρήσης  
Χαρακτηριστικά Απόδοσης  
Περίληψη της Διαδικασίας Προσδιορισμού RVP  
Ερμηνεία των Συμβόλων  
Βιβλιογραφία / Αναφορές

## Προοριζόμενη Χρήση

Το Διαγνωστικό Σύνολο ανίχνευσης Αναπνευστικών Ιών της Biotrin είναι ένας *in vitro* προσδιορισμός ανοσοφθορισμού για το συνολικό έλεγχο (screening) και ταυτοποίηση του αδενοϊού, της Γρίπης τύπου Α, της Γρίπης τύπου Β, της Παραγρίπης τύπου 1, της Παραγρίπης τύπου 2, της Παραγρίπης τύπου 3 και του Αναπνευστικού Συγκυτιακού Ιού (RSV) με έμμεση ανίχνευση και σε κυτταροκαλλιέργεια.

## Εισαγωγή

Πάνω από 200 ιοί προκαλούν λοίμωξη του αναπνευστικού αλλά μόνο επτά – αδενοϊός, γρίπη Α και Β, παραγρίπη 1, 2 και 3 και αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV), είναι υπεύθυνοι για τις περισσότερες σοβαρές ασθένειες στους πολύ νεαρούς και στους ανοσοκατασταλαμένους ξενιστές. Οι ιοί αυτοί είναι επίσης υπεύθυνοι για τη σημαντική νοσηρότητα σε υγιείς ενήλικες σε περιόδους επιδημίας. Νοσοκομειακές λοιμώξεις από RSV και γρίπη μπορούν να αποβούν μοιραίες για νοσηλεύόμενα νεογνά και ασθενείς των μονάδων εντατικής νοσηλείας.

Η έγκαιρη ταυτοποίηση των αναπνευστικών ιών είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική διάγνωση και χειρισμό των ασθενών. Οι τρεις πιο κοινές μέθοδοι εργαστηριακής ταυτοποίησης είναι (α) άμεση ανίχνευση, (β) επιβεβαίωση καλλιέργειας και (γ) ορολογική. Από αυτές, η άμεση ανίχνευση και η επιβεβαίωση καλλιέργειας είναι οι τυπικές διαδικασίες που χρησιμοποιούνται από τα περισσότερα ιολογικά εργαστήρια. Το διαγνωστικό σύνολο ανίχνευσης αναπνευστικών ιών της Biotrin χρησιμοποιεί υψηλής ποιότητας, ειδικά για τις ομάδες και τους τύπους, μονοκλωνικά αντισώματα για την άμεση ανίχνευση και την επιβεβαίωση καλλιέργειας, παρέχοντας καθαρά, εύκολα στην ερμηνεία αποτελέσματα εντός 60 λεπτών.

## Πίνακας 1 Εποχικότητα των Ιογενών αναπνευστικών παθήσεων

Ιός	Εποχή του έτους
Αδενοϊός	Όλο το έτος
Γρίπη Α	Χειμερινοί μήνες
Γρίπη Β	Χειμερινοί μήνες
Παραγρίπη 1	Όλο το έτος με έξαρση προς το τέλος καλοκαιριού και το φθινόπωρο
Παραγρίπη 2	Όλο το έτος με έξαρση προς το τέλος καλοκαιριού και το φθινόπωρο
Παραγρίπη 3	Όλο το έτος με έξαρση προς το τέλος καλοκαιριού και το φθινόπωρο
RSV	Τέλος φθινοπώρου με αρχές άνοιξης

## **Αδενοϊοί**

Οι ανθρώπινοι αδενοϊοί συσχετίζονται με μεγάλο εύρος κλινικών νόσων, οι οποίες συμπεριλαμβάνουν αναπνευστικές, οφθαλμικές και γαστρεντερικές λοιμώξεις. Οι λοιμώξεις είναι ιδιαίτερα κοινές σε παιδιά και νεαρούς ενήλικες, ενώ λαμβάνουν χώρα και σποραδικά και σε επιδημίες. Σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα μπορούν να λάβουν χώρα σοβαρές συστηματικές λοιμώξεις οι οποίες μπορούν να απειλήσουν τη ζωή.

Ειδικοί ορότυποι του αδενοϊού συσχετίζονται με ποικίλες κλινικές καταστάσεις. Οι τύποι 15-24 και 37 μπορούν να οδηγήσουν σε οφθαλμική νόσο, που εκτείνεται από ήπιες καταστάσεις όπως υδατογενής ("πισίνας") επιπεφυκίτιδα μέχρι σοβαρή επιδημία επιπεφυκίτιδας. Ο αδενοϊός έχει συσχετιστεί με 4-15% όλων των νοσοκομειακών περιστατικών ιογενούς γαστρεντερίτιδας σε νεογνά: οι τύποι 40 και 41 ευθύνονται για την πλειονότητα αυτών των περιπτώσεων.<sup>(1,2)</sup>

Ο αδενοϊός εμπλέκεται στους περισσότερους μείζονες τύπους αναπνευστικών συνδρόμων. Οι νόσοι του άνω αναπνευστικού που οφείλονται σε αδενοϊό εμφανίζονται κυρίως σε βρέφη και νεαρά παιδιά, και συμπεριλαμβάνουν κρυώματα, φαρυγγίτιδα και αμυγδαλίτιδα. Ο αδενοϊός συσχετίζεται επίσης με λοιμώξεις του κάτω αναπνευστικού, συμπεριλαμβανομένων της βρογχίτιδας και βρογχιολίτιδας.<sup>(3)</sup> Επιπλέον, ο αδενοϊός (τύποι 38, 39 και 17) συσχετίζεται με περίπου 5% της οξείας αναπνευστικής νόσου (ARD) σε παιδιά και σε 10% εμπύρετης και παιδικής πνευμονίας.<sup>(4)</sup>

Η εργαστηριακή διάγνωση της λοίμωξης με αδενοϊό παίζει σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματική αντιμετώπιση και τον έλεγχο σε επιδημίες. Η κυτταροκαλλιέργεια είναι η συνηθισμένη μέθοδος για την ταυτοποίηση του αδενοϊού ο οποίος μπορεί να καλλιεργηθεί και να απομονωθεί σε διάφορες κυτταρικές σειρές, και να ταυτοποιηθεί με πολλές μεθόδους. Κατάλληλες κυτταρικές σειρές είναι οι Hep-2, HeLa, KB και HEK. Η κυτταροπαθογόνος δράση (ΚΔ) είναι τυπικά σε σχήμα «τσαμπιών σταφυλιού» τα οποία εμφανίζονται συνήθως σε 3 με 10 ημέρες. Η ΚΔ επιβεβαιώνεται με ανοσοφθορισμό, ΕΙΑ ή υβριδισμό του DNA. Η ηλεκτρονική μικροσκοπία κοπράνων είναι επίσης καθιερωμένη μέθοδος διάγνωσης του αδενοϊού, όμως αυτή η ευχέρεια υπάρχει μόνο σε εξειδικευμένα εργαστήρια.<sup>(5,6)</sup>

## **Γρίπη A & B**

Υπάρχουν τρεις τύποι ιού της γρίπης: τύπος A, B και Γ. Οι ιοί της γρίπης A και B ευθύνονται για μία υψηλά μεταδοτική νόσο η οποία απαντάται κατά τη διάρκεια ψυχρών μηνών και συχνά συσχετίζεται με μεγάλες εξάρσεις και επιδημίες. Ο ιός της γρίπης Γ σπάνια έχει σαν αποτέλεσμα νόσου του κάτω αναπνευστικού και συχνότερα σχετίζεται με σποραδική νόσο του άνω αναπνευστικού.<sup>(7)</sup>

Η λοίμωξη με ιό της γρίπης οδηγεί σε αιφνίδια εμπύρετη νόσο και σχετίζεται με φαρυγγίτιδα, λαρυγγίτιδα, λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα, βρογχίτιδα/τραχειοβρογχίτιδα, καθώς και βρογχίτιδα, γρίπη και πνευμονία. Οι ηλικιωμένοι και οι νέοι είναι μερικώς σε κίνδυνο σοβαρής λοίμωξης καθώς πνευμονικές οι καρδιακές επιπλοκές μπορούν να συμβούν.<sup>(8)</sup>

Η κλασική μέθοδος διάγνωσης των ιών της γρίπης είναι η απομόνωση σε κυτταρικές σειρές PMK, A549 ή MDCK όπως και εμβρυώδη αυγά όρνιθας. Η ΚΔ εμφανίζεται 3-7 ημέρες μετά τον ενοφθαλμισμό ως κενोटόπια και κυτταρικό εκφυλισμό.<sup>(9)</sup>

### **Παραγρίπη 1,2 & 3**

Οι ιοί της παραγρίπης, σε συνδυασμό με RSV, είναι τα πιο σημαντικά ιογενή αναπνευστικά παθογόνα σε βρέφη και παιδιά. Σε μεγαλύτερα παιδιά και ενήλικες, η νόσος μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή με συμπτώματα παρόμοια με το κοινό κρυολόγημα.

Έχουν αναγνωριστεί τέσσερις τύποι ιού της παραγρίπης. Οι τύποι 1 και 2 είναι οι σημαντικότεροι αιτιολογικοί παράγοντες λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδας που είναι ιδιαίτερα σοβαρή σε παιδιά μεταξύ 2-4 ετών. Ο ιός της παραγρίπης 3 μπορεί επίσης να προκαλέσει λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα αλλά σχετίζεται συχνότερα με βρογχιολίτιδα και πνευμονία σε βρέφη (η πιο σοβαρή λοίμωξη εμφανίζεται σε παιδιά μικρότερα του 1 έτους). Ο ιός της παραγρίπης 4 έχει συσχετιστεί με ήπια νόσο του άνω αναπνευστικού σε παιδιά και ενήλικες.<sup>(7,12)</sup>

Ο ιός της παραγρίπης μεγαλώνει καλά σε κυτταρικές σειρές PMK, LLC-MK2 και HEK. Επίσης μπορεί εύκολα να ανακτηθεί από Vero, A549 και ανθρώπινους διπλοειδείς ινοβλάστες. Η ΚΔ εμφανίζεται 4-7 ημέρες μετά τον ενοφθαλμισμό και παρατηρείται ως αύξηση μικρών σφαιρικών κυττάρων σε παραγρίπη τύπου 1, συγκυτιακός κυτταρικός σχηματισμός σε παραγρίπη τύπου 2 και "ινώδεις άκρες" σε παραγρίπη τύπου 3.<sup>(9,10)</sup>

Η επιβεβαίωση της κυτταροκαλλιέργειας γίνεται γενικά με τη χρήση ερυθροκυττάρων ινδικών χοιριδίων. Όμως ο ανοσοφθορισμός με αντισώματα εξασφαλίζει μία γρήγορη και οικονομική μέθοδο η οποία είναι ικανή να δώσει ειδικότητα τύπου. Ο ανοσοφθορισμός έχει αποδειχθεί επίσης ότι είναι η καλύτερη τεχνική για την άμεση ανίχνευση σε επιθηλιακά κύτταρα του αναπνευστικού.

### **Αναπνευστικός Συγκυτιακός Ιός**

Ο RSV είναι η πρωταρχική αιτία λοιμώξεων του κάτω αναπνευστικού σε βρέφη και μικρά παιδιά. Η λοίμωξη οδηγεί σε βρογχίτιδα/τραχειοβρογχίτιδα αλλά μπορεί επίσης να οδηγήσει σε λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα, κρύωμα και πνευμονία. Σε ενήλικες και μεγαλύτερα παιδιά, η λοίμωξη τείνει να είναι ασυμπτωματική ή να εμφανιστεί σαν το «κοινό κρυολόγημα». Παρατηρείται σε ευκρινείς εποχιακές εξάρσεις οι οποίες αρχίζουν το Νοέμβριο ή το Δεκέμβριο και συνεχίζουν για περίπου τρεις μήνες.<sup>(14)</sup>

Η άμεση ανίχνευση (με ανοσοφθορισμό ή EIA) είναι γενικά αποδεκτή σας μέθοδος εκλογής. Όμως η επιβεβαίωση με κυτταροκαλλιέργεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε σαν μοναδική μέθοδος, ή σαν συμπλήρωμα στα αποτελέσματα της άμεσης ανίχνευσης. Για πρωταρχική απομόνωση του ιού οι κυτταρικές σειρές Hep-2 και HeLa είναι οι καταλληλότερες, αλλά οι Vero, LLC-MK2 και CV-1 έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί. Ο ιός παράγει χαρακτηριστική ΚΔ με σχηματισμό συγκυτίου και κυτταρική καταστροφή. Ο ανοσοφθορισμός είναι η μέθοδος εκλογής ως ένα επαληθευτικό ανοσο-αντιδραστήριο.<sup>(15,16)</sup>

### **Αρχή της Μεθόδου**

Το **Διαγνωστικό Σύνολο για την ανίχνευση Αναπνευστικών Ιών της Biotrin** χρησιμοποιεί μία τεχνική αντισώματος έμμεσου ανοσοφθορισμού για την ανίχνευση των 7 σημαντικότερων αναπνευστικών παθογόνων σε μολυσμένες κυτταροκαλλιέργειες και σε άμεσα επιχρίσματα. Το αντί-ικό αντιδραστήριο ελέγχου (screening) χρησιμοποιείται για την επιβεβαίωση της παρουσίας κάποιου αναπνευστικού ιού. Η αναγνώριση του ειδικού ιού επιτυγχάνεται στη συνέχεια με τη χρήση των αντί-αδενοϊκών, αντί-γριπικών A & B, αντί-παραγριπικών 1, 2 & 3 και αντί-RSV μονοκλωνικών αντισωμάτων.

Τα μονιμοποιημένα δείγματα ασθενών επωάζονται με αντί-ικό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού σε γυάλινο πλακίδιο. Εάν είναι παρόν ειδικό ικό αντιγόνο δημιουργείται ένα σταθερό σύμπλοκο με το αντίσωμα. Μετά από ένα βήμα πλυσίματος, προστίθεται αντίσωμα αίγας αντί-ποντικού σημασμένο με FITC, το οποίο προσδένεται στο σύμπλοκο αντιγόνου-αντισώματος. Οποιοδήποτε ελεύθερο αντιδραστήριο απομακρύνεται με ένα επιπλέον βήμα πλυσίματος και το δείγμα μπορεί στη συνέχεια να παρατηρηθεί με τη βοήθεια μικροσκοπίου ανοσοφθορισμού.

Η θετική αντίδραση δηλώνεται με την παρουσία ζωηρού πράσινου φθορισμού. Τα μη-μολυσμένα κύτταρα εμφανίζονται με θαμπό κόκκινο χρώμα λόγω της παρουσίας κυανού του Evans στο σημασμένο με FITC αντιδραστήριο σύζευξης.

## Συστατικά του Διαγνωστικού Συνόλου

### Παρεχόμενα Υλικά

#### 1. Πλακίδια Αντιγονικού Ελέγχου:

ΠΛΑΚΙΔΙΟ
----------

Πλακίδια αντιγονικού ελέγχου 5 x 8 βυθισμάτων (Αρ. Κατ. V4RVPS). Κάθε πλακίδιο αποτελείται από ένα βύθισμα θετικού αντιγονικού ελέγχου μολυσμένου με κάθε ένα από τα ακόλουθα: αδενοϊός, γρίπη A & B, παραγρίπη 1, 2 & 3 και RSV. Το βύθισμα αρνητικού ελέγχου περιέχει μη-μολυσμένα κύτταρα.

#### 2. Μονοκλωνικά αντισώματα\*\*:

ΕΛΕΓΧΟΣ	+	A
---------	---	---

1 x 1 ml φιαλίδιο που περιέχει μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του αδενοϊού.

ΕΛΕΓΧΟΣ	+	IA
---------	---	----

1 x 1 ml φιαλίδιο που περιέχει μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της γρίπης A.

ΕΛΕΓΧΟΣ	+	IB
---------	---	----

1 x 1 ml φιαλίδιο που περιέχει μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της γρίπης B.

ΕΛΕΓΧΟΣ	+	P1
---------	---	----

1 x 1 ml φιαλίδιο που περιέχει μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της παραγρίπης 1.

ΕΛΕΓΧΟΣ	+	P2
---------	---	----

1 x 1 ml φιαλίδιο που περιέχει μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της παραγρίπης 2.

ΕΛΕΓΧΟΣ	+	P3
---------	---	----

1 x 1 ml φιαλίδιο που περιέχει μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της παραγρίπης 3.

ΕΛΕΓΧΟΣ	+	R
---------	---	---

1 x 1 ml φιαλίδιο που περιέχει μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του RSV.

#### 3. Αντί-Ιικό Αντιδραστήριο Συνολικού Ελέγχου (screening)

ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	+
-------------------	---

1 x 5 ml μείγματος μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι: αδενοϊού, γρίπης A & B, παραγρίπης 1, 2 & 3 και RSV.

#### 4. Αρνητικός Έλεγχος:

ΕΛΕΓΧΟΣ	-	IgG
---------	---	-----

1 x 5 ml αντισώματα μη-ανοσοποιημένου μυός για χρήση σαν αρνητικός έλεγχος.

#### 5. Αντιδραστήριο Σύζευξης Αντί-Ποντικού IgG FITC \*\*::

CONJ	IgG
------	-----

2 x 5 ml αντιδραστηρίου σύζευξης, αντίσωμα αίγας αντί-μυός IgG σημασμένο με FITC.

6. **Στερεωτικό Μέσο\*\*:**

MM

1 x 5 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris γλυκερόλης που περιέχει ενισχυτικό παράγοντα φθορισμού και αζίδιο του νατρίου σαν συντηρητικό.

7. **Συμπυκνωμένο Πλυστικό Διάλυμα (PBS)\*\*:**

BUF WASH CONC

1 φάκελος ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού άλατος το οποίο παράγει 1 λίτρο μετά από διάλυση σε απεσταγμένο νερό. Φυλάσσεται σε καθαρό κλειστό δοχείο σε θερμοκρασία δωματίου.

8. **Tween 20:**

TWEEN

1 x 5 ml συμπυκνωμένο Tween 20 και αζίδιο του νατρίου ( $\text{NaN}_3$ ) για διάλυση 1:100 σε PBS.

9. **Φυλλάδιο Οδηγιών:**

INS

Οδηγίες χρήσης.

\*\* Το αζίδιο του νατρίου (παρόν στο αντιδραστήριο σύζευξης, στα μονοκλωνικά αντισώματα, στο πλυστικό διάλυμα, και στο στερεωτικό μέσο) είναι δυνητικά βιοεπικίνδυνο υλικό. Μπορεί να αντιδράσει με το μόλυβδο ή το χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων, σχηματίζοντας δυνητικά εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια. Κατά την απόρριψη τέτοιων υλικών χρησιμοποιείτε μεγάλους όγκους νερού για την αποφυγή δημιουργίας αζιδίων.

### **Πρόσθετα Απαιτούμενα Υλικά**

- Κυτταροκαλλιέργεια για την απομόνωση αναπνευστικών ιών: κάθε εργαστήριο πρέπει να διατηρεί βιώσιμα αποθέματα κυττάρων σε κατάλληλο αριθμό ανακαλλιιεργειών τα οποία θα επιτρέψουν τον πολλαπλασιασμό των αναπνευστικών ιών από δείγματα ασθενών. Αυτά τα κύτταρα πρέπει να ελέγχονται περιοδικά για την ικανότητά τους να υποστηρίξουν την ανάπτυξη αναπνευστικών ιών. Οι κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι οι MDCK, LLC-MK2, A549, Hep-2 και διπλοειδείς ινοβλάστες (W138, HNF, MRC-5).
- Το υλικό μεταφοράς ιών (VTM), το οποίο είναι μη-ανασταλτικό για τους αναπνευστικούς ιούς, τις κυτταροκαλλιέργειες, τον αδενοϊό, τον ιό της γρίπης A & B, τους ιούς της παραγρίπης 1, 2 & 3 και του RSV, χρησιμοποιείται για την σταθεροποίηση των ιών. Το διάλυμα ρυθμιστικών αλάτων Hank's με αντιβιοτικά και πρωτεϊνικό σταθεροποιητή είναι κατάλληλο υλικό.  
[ΣΗΜΕΙΩΣΗ: οροί ζώων εκτός από ορό θηλάζοντος εμβρύου μόσχου δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σαν πρωτεϊνικός σταθεροποιητής, για την αποφυγή παρεμβολών από ενυπάρχων αντίσωμα].
- Καλλιιεργητικό υλικό. RPMI ή Eagles Minimal Essential Medium με την κατάλληλη ποσότητα ορού θηλάζοντος εμβρύου μόσχου είναι κατάλληλα για διατήρηση μετά από μόλυνση με ιό.
- Στείρα σωληνάρια κυτταροκαλλιιεργειών, φιαλίδια dram, ή πλάκες πολλαπλών βυθισμάτων.
- Στείροι στυλεοί (βαμβάκι ή drakon) οι οποίοι είναι μη-ανασταλτικοί για τους αναπνευστικούς ιούς και τις κυτταροκαλλιιεργειες.
- Φιαλίδια για μεταφορά δειγμάτων και συλλογή.
- Στείρες πιπέττες Pasteur ή πιπέττες ακριβείας και ρύγχη μίας χρήσης.
- Στείρες βαθμονομημένες πιπέττες για διανομή 1ml, 5ml και 10ml.
- Λαβίδες.
- Στείρα γυάλινα σφαιρίδια (διάμετρος 1-3mm).
- Υψηλής ποιότητας απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό.
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου (0.05%).
- Ακετόνη 99.5%  
[ΣΗΜΕΙΩΣΗ: η ακετόνη είναι υγροσκοπική και πρέπει να φυλάσσεται σε καλά κλεισμένο δοχείο. Η ακετόνη επιμολυσμένη με νερό μπορεί να οδηγήσει σε θαμπή εμφάνιση του υποστρώματος σε δοκιμασίες φθορισμού].
- Γυάλινα πλακίδια (κατά προτίμηση με 2 και 8 βυθίσματα για έλεγχο και ταυτοποίηση) – πλυμένα με ακετόνη και καθαρισμένα.
- Γυάλινες καλυπτρίδες πάχους No. 1 (22 x 50 mm).
- Υγρός κλίβανος για την επώαση των πλακιδίων (35-37°C).
- Μικροσκόπιο φθορισμού με το σωστό συνδυασμό φίλτρων για FITC (διέγερση = 490nm, εκπομπή = 520nm).
- Αναδευτήρας vortex ή συσκευή υπερήχων.
- Φυγόκεντρος.
- Χρονόμετρο
- Δοχείο πλύσης (υδροβολέας)
- Επωαστήρας με ρεοστάτη για τη ρύθμιση της θερμοκρασίας (35 - 37°C)

## Προφυλάξεις

### Ασφάλεια

- Μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Το διαγνωστικό σύνολο προορίζεται για χρήση μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό.
- Το αντιδραστήριο σύζευξης, τα μονοκλωνικά αντισώματα, το πλυστικό διάλυμα, και το στερεωτικό μέσο περιέχουν αζίδιο του νατρίου σαν συντηρητικό. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με το μόλυβδο ή το χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων, σχηματίζοντας δυνητικά εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια. Κατά την απόρριψη τέτοιων υλικών χρησιμοποιείστε μεγάλους όγκους νερού για την αποφυγή δημιουργίας αζιδίων.
- Το αντιδραστήριο σύζευξης αντί-μυός IgG περιέχει κυανό του Evans το οποίο είναι δυνητικά καρκινογόνο. Εάν έρθει σε επαφή με το δέρμα, ξεπλύνετε με μεγάλη ποσότητα νερού, άμεσα.
- Η ακετόνη είναι εξαιρετικά εύφλεκτη και επιβλαβής εάν κατοποθεί ή εισπνευθεί. Κρατήστε τη μακριά από θερμότητα, σπithes, ή φλόγες. Αποφύγετε την εισπνοή. Χρησιμοποιείστε επαρκή αερισμό.
- Παρά το ότι τα πλακίδια ελέγχου έχουν αδρανοποιηθεί, οι χειρισμοί και η απόρριψη θα πρέπει να γίνονται σαν να πρόκειται δυνητικά μολυσματικό υλικό.
- Απορρίψτε όλα τα κλινικά δείγματα, μολυσματικά ή δυνητικά μολυσματικά σε συμφωνία με την Καλή Πρακτική Εργαστηρίων. Όλα τα παρόμοια υλικά θα πρέπει να απορρίπτονται σαν δυνητικά μολυσματικά.
- Μην πιπετάρτε υλικά με το στόμα και ποτέ μην τρώτε ή πίνετε στον πάγκο εργασίας του εργαστηρίου.
- Μόνο εξειδικευμένο προσωπικό θα πρέπει να ασχολείται με κυτταροκαλλιέργειες.
- Τα υπολείμματα χημικών, παρασκευασμάτων και μέρη του διαγνωστικού συνόλου θεωρούνται γενικά επικίνδυνα απορρίμματα. Όλα αυτά τα υλικά θα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με ασφαλείς διαδικασίες.
- Φοράτε προστατευτικό ρουχισμό, πλαστικά γάντια μίας χρήσης και προστασία ματιών κατά τη διάρκεια παρασκευής των δειγμάτων και της εκτέλεσης της μεθόδου. Πλύνετε τα χέρια σας καλά μετά το πέρας της εργασίας.

### Διαδικαστικά

- Μην χρησιμοποιείτε το διαγνωστικό σύνολο ή τα επιμέρους αντιδραστήριά του μετά την ημερομηνία λήξης τους.
- Μετατροπή του πρωτοκόλλου μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Μην αναμιγνύετε ή αντικαθιστάτε αντιδραστήρια από διαγνωστικά σύνολα με διαφορετικούς αριθμούς παρτίδας.
- Μην αντικαθιστάτε αντιδραστήρια με άλλα, άλλων κατασκευαστών.
- Η ανάμειξη ή αραίωση των αντιδραστηρίων σύζευξης ή των μονοκλωνικών αντισωμάτων μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Αποφύγετε να αφήνετε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία μεγαλύτερη από τους 4°C για μεγάλα χρονικά διαστήματα.
- Μην εκθέτετε τα αντιδραστήρια σε ισχυρό φως κατά τη διάρκεια της φύλαξης ή των επωάσεων.
- Ο αρνητικός έλεγχος (φυσιολογικά αντισώματα μυός) πρέπει να δοκιμαστεί με κάθε απομονωθέν στέλεχος. Ο φθορισμός υπονοεί μη-ειδική αντίδραση και η δοκιμασία θεωρείται άκυρη.

- Μη επιτρέπετε το στέγνωμα των πλακιδίων σε καμία φάση της διαδικασίας χρώσης.
- Εάν κάνετε χρώση σε πολλά δείγματα ταυτόχρονα στο ίδιο πλακίδιο, θα πρέπει να εξασκείται προσοχή για να αποφευχθεί επιμόλυνση μεταξύ των δειγμάτων.
- Πάντα χρησιμοποιείτε καθαρά, κατά προτίμηση μίας χρήσης, γυαλικά για την προπαρασκευή των αντιδραστηρίων.

### **Φύλαξη και Σταθερότητα**

- Το διαγνωστικό σύνολο είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του εξωτερικού κουτιού, εφόσον αυτό φυλάσσεται μεταξύ 2-8°C. Μην καταψύχετε ή εκθέτετε σε υψηλές θερμοκρασίες. Απορρίψατε οποιαδήποτε εναπομείναντα αντιδραστήρια μετά τη λήξη του διαγνωστικού συνόλου.
- Το αντιδραστήριο σύζευξης και τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι σταθερά για 12 μήνες όταν φυλάσσονται μακριά από το φως και στους 4°C.
- Το PBS θα πρέπει να φυλάσσεται σε καθαρό, κλειστό δοχείο σε θερμοκρασία δωματίου.
- Κατά τη διάρκεια της επώασης, τα πλακίδια θα πρέπει να κρατώνται μακριά από το φως, σε υγρό θάλαμο.
- Η ακετόνη είναι υγροσκοπική και πρέπει να φυλάσσεται σε καλά κλειστό δοχείο.

### **Συλλογή των Δειγμάτων**

Η σωστή συλλογή των δειγμάτων, η μεταφορά, προετοιμασία και φύλαξή τους είναι σημεία θεμελιώδη για την επιτυχή εργαστηριακή διάγνωση. Η πιθανότητα απομόνωσης των ιών αυξάνεται όταν τα δείγματα συλλέγονται το συντομότερο δυνατόν (3-7 ημέρες) μετά την απαρχή των συμπτωμάτων. Ανάλογα με τον τύπο του αναπνευστικού συνδρόμου του ασθενούς, αρκετά διαφορετικά δείγματα μπορούν να συλλεχθούν.

### **Δείγματα Εκλογής**

#### **Λοιμώξεις του Άνω Αναπνευστικού**

Κρυολογήματα	Ρινικά εκπλύματα και αναρροφήσεις (συνήθως δίνουν μεγαλύτερους τίτλους), αλλά τα ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα είναι επίσης αποδεκτά.
Φαρυγγίτιδα	Ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα ή αναρροφήσεις πρέπει να συλλέγονται (ειδικά εάν τα ρινικά συμπτώματα είναι εμφανή). Τα φαρυγγικά εκπλύματα ή επιχρίσματα μπορεί να είναι προτιμητέα εάν υπάρχει εμφανής φαρυγγίτιδα.
Λαρυγγίτιδα	Ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα ή αναρροφήσεις πρέπει να συλλέγονται.
Τραχειολαρυγγοβρογχίτιδα/ Λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα	Οι ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις είναι το δείγμα εκλογής

## Λοιμώξεις του Άνω Αναπνευστικού

Βρογχίτιδα/ τραχειοβρογχίτιδα	Οι ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις είναι το δείγμα εκλογής.
Βρογχολίτιδα	Οι ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις είναι το δείγμα εκλογής.
Σύνδρομο που Προσομοιάζει τον κοκκίτη	Ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα ή αναρροφήσεις πρέπει να συλλέγονται.
Σύνδρομο Γρίπης	Ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα ή αναρροφήσεις πρέπει να συλλέγονται.
Πνευμονία	Ρινοφαρυγγικά ή φαρυγγικά επιχρίσματα είναι αποδεκτά.

## Συλλογή Δειγμάτων

*Ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα:* Ένας στεγνός στυλεός πρέπει να εισαχθεί στο ένα ή και στα δύο ρόθωνες στην ρινοφαρυγγική περιοχή (ένας ξεχωριστός στυλεός για κάθε ρόθωνα μπορεί να αυξήσει τον όγκο του δείγματος). Αφήσατε τον στυλεό να απορροφήσει τις εκκρίσεις για μερικά δευτερόλεπτα, περιστρέψτε απαλά, και απομακρύνετε. Τοποθετήστε τον στυλεό σε 1-2 ml υλικού μεταφοράς ιών (YMI), αποσπάστε το στέλεχος και κλείστε καλά το δοχείο.

*Φαρυγγικά επιχρίσματα:* Υγράνετε ένα στυλεό σε στείρο PBS ή (YMI) και τρίψτε σταθερά στις αμυγδαλές και τον πρόσθιο φάρυγγα. Τοποθετήστε τον στυλεό σε 1-2 ml υλικού μεταφοράς ιών (YMI), αποκόψτε το στέλεχος και κλείστε καλά το δοχείο.

*Φαρυγγικά εκπλύματα:* Ο ασθενής πρέπει να κάνει γαργάρα με 3-5 ml στείρου PBS, το οποίο μετά συλλέγεται σε στείρο δοχείο περιέχον 1-2 ml YMI, και το οποίο κλείνεται καλά.

*Ρινικά εκπλύματα:* 2-3ml στείρου PBS διοχετεύονται σε κάθε ρόθωνα ενώ ο ασθενής κρατάει το κεφάλι του με κλίση προς τα πίσω. Το κεφάλι έρχεται στη συνέχεια μπροστά, και το υγρό συλλέγεται σε στείρο δοχείο το οποίο περιέχει YMI και το οποίο κλείνεται καλά.

*Ρινοφαρυγγικά εκπλύματα:* 3-7ml στείρου PBS αναρροφάται σε μαλακό ελαστικό βολβό (πούαρ). Τοποθετήστε τον ασθενή στην πλευρά του και κλείστε απαλά τον ένα ρόθωνα με την πίεση του δακτύλου. Χρησιμοποιήστε την άκρη του βολβού για να φράξετε τελείως την άλλη πλευρά και ρίξτε με πίεση PBS στη μύτη και αναρροφήστε γρήγορα. Οι εκκρίσεις, στη συνέχεια, συλλέγονται σε στείρο δοχείο το οποίο περιέχει 1-2 ml YMI, και το οποίο κλείνεται καλά.

*Ρινοφαρυγγικά αναρροφήματα:* Ένας Γαλλικός πο. 8, μαλακός ελαστικός σωλήνας τροφοδότησης συνδέεται μέσω παγίδας που περιέχει βαλβίδα, σε μία ηλεκτρική αντλία αναρρόφησης. Εισάγετε το στείρο καθετήρα μέσω των ρόθωνων στο πίσω μέρος της μύτης. Εφαρμόστε περιοδική αναρρόφηση, ενώ ταυτόχρονα αποσύρετε τον

καθετήρα. Η διαδικασία μπορεί να επαναληφθεί μία φορά σε κάθε ρόθωνα έτσι ώστε να συλλεχθούν 0,2-0,8 ml εκκρίσεων. Οι εκκρίσεις θα πρέπει να μεταφερθούν σε 1-2 ml YMI, και το δοχείο να κλείσει καλά.

### **Μεταφορά και Φύλαξη Δειγμάτων**

Όλα τα δείγματα πρέπει να μεταφέρονται στο εργαστήριο σε πάγο, αμέσως μετά τη συλλογή τους. Οι περισσότεροι αναπνευστικοί ιοί είναι ασταθείς και ευαίσθητοι σε επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη. Επομένως, τα δείγματα θα πρέπει να διατηρούνται στους 2-8°C πριν τον ενοφθαλμισμό τους. Εάν δεν είναι δυνατή η εξέταση των δειγμάτων μέσα σε 72 ώρες, προτείνεται η κατάψυξη στους -70°C ή χαμηλότερα. Γρήγορη κατάψυξη σε ακετόνη/ξηρό πάγο θα βοηθήσει στη διατήρηση της μολυσματικότητας των ιών. Εντούτοις, η κατάψυξη των δειγμάτων μειώνει κατά πολύ την πιθανότητα απομόνωσης.

### **Παρασκευή Δειγμάτων**

- Για να απελευθερωθούν τα κύτταρα τα οποία είναι παγιδευμένα μέσα στις ίνες του στυλεού, οι τελευταίοι πρέπει να περιστραφούν ενώ είναι βυθισμένοι στο υλικό μεταφοράς. Οι στυλεοί στη συνέχεια απορρίπτονται σε διάλυμα υποχλωριδίου του νατρίου.
- Για αυξημένη ανάκτηση, προσθέστε μερικά στείρα γυάλινα σφαιρίδια στο δείγμα και αναδεύστε ζωηρά (vortex) ή τοποθετήστε σε μηχανήμα υπερήχων (8-12kc/sec) για μέχρι 1 λεπτό.
- Φυγοκεντρήστε το δείγμα σε 2000 x g για 10 λεπτά για να απομακρύνετε βακτηριακές επιμολύνσεις και υπολείμματα. Το υπερκείμενο θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί σαν υλικό ενοφθαλμισμού.

### **Επεξεργασία Δειγμάτων για Άμεση Εξέταση**

Εάν τα δείγματα πρόκειται να χρησιμοποιηθούν και για άμεση ανίχνευση και για επιβεβαίωση με κυτταροκαλλιέργεια, μισά από τα κύτταρα θα πρέπει να απομακρυνθούν με φυγοκέντρωση σε 300 με 500 x g και να χρησιμοποιηθούν με την ακόλουθη διαδικασία. Το υπερκείμενο και τα εναπομείναντα κύτταρα του δείγματος θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν με τη διαδικασία «Απομόνωση απο Κυτταροκαλλιέργεια και Μονιμοποίηση» (βλ. σελίδα 14).

1. Απομακρύνετε το υλικό του δείγματος από το αρχικό του δοχείο και τοποθετήστε το σε σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 10-15 ml.
2. Προσθέστε 4ml στείρου PBS στο δείγμα, και αναδεύστε.
3. Φυγοκεντρήστε το δείγμα σε 300-500 x g για 10 λεπτά στους 2-8°C.
4. Το υπερκείμενο συλλέγεται για να χρησιμοποιηθεί για απομόνωση ιών.  
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Συμβουλευτείτε το «Απομόνωση απο Κυτταροκαλλιέργεια και Μονιμοποίηση» (βλ. σελίδα 14).
5. Το κυτταρικό ίζημα πλένεται με την προσθήκη 4-8 ml PBS και επαναδιαλύοντας τα κύτταρα με προσοχή.
6. Φυγοκεντρήστε σε 300-500 x g για 10 λεπτά στους 2-8°C.
7. Εάν υπάρχει βλέννη, θα δημιουργήσει μία θαμπή στιβάδα πάνω από το κυτταρικό ίζημα. Με προσοχή αφαιρέστε το υπερκείμενο και τη βλέννη με τη χρήση μίας

- στείρας πιπέτας Pasteur. Εάν υπάρχει ακόμα βλέννη, επαναλάβετε τα βήματα 6-8 μέχρι να απομακρυνθεί.
8. Επαναδιαλυτοποιήστε τα κύτταρα σε 0,1-0,2 ml PBS για να δημιουργηθεί ένα νεφελώδες διάλυμα. Τα υπερβολικά νεφελώδη διαλύματα είναι δύσκολο να διαβαστούν και δεν οδηγούν στην παρασκευή πλακιδίων υψηλής ποιότητας. Τα διαλύματα τα οποία δεν περιέχουν αρκετά κύτταρα οδηγούν σε απώλεια ευαισθησίας. Τα επιχρίσματα πρέπει να περιέχουν τουλάχιστον δύο επιθηλιακά κύτταρα ανά πεδίο 250x.
  9. Τοποθετήστε μία σταγόνα κυτταρικού διαλύματος στον επιθυμητό αριθμό βυθισμάτων σε καθαρά πλακίδια. Επιτρέψτε στα πλακίδια να στεγνώσουν στον αέρα.
  10. Μονιμοποιήστε τα πλακίδια σε παγωμένη (2-8°C) ακετόνη για 10 λεπτά. Μην αφήσετε την ακετόνη να επιμολυνθεί με νερό και άλατα. Αυτό μπορεί να προκαλέσει θαμπή χρώση.
  11. Επιτρέψτε στα πλακίδια να στεγνώσουν στον αέρα μετά τη μονιμοποίηση. Τα πλακίδια θα πρέπει να βαφούν το συντομότερο δυνατόν. Εάν απαιτείται φύλαξη, τοποθετήστε τα πλακίδια σε ξηρό δοχείο στους  $\leq -20^{\circ}\text{C}$ . Τα πλακίδια που φυλάσσονται στους  $-20^{\circ}\text{C}$  διατηρούνται μέχρι 1 χρόνο. Τα πλακίδια πρέπει να φυλάσσονται σε καλά κλεισμένα δοχεία για να αποφεύγεται ή εισχώρηση υγρασίας.
  12. Προχωρήστε με την παράγραφο «Έλεγχος Δειγμάτων» (βλ. σελίδα 15).

### **Απομόνωση Κυτταροκαλλιέργειας και Μονιμοποίηση**

1. Εξετάστε τις κυτταροκαλλιέργειες ακριβώς πριν τον ενοφθαλμισμό για να βεβαιωθεί η καλή βιωσιμότητα και μορφολογία των κυττάρων.
2. Αφαιρέστε το παλιό καλλιεργητικό υλικό από την κυτταροκαλλιέργεια με τη χρήση στείρας πιπέττας και αντικαταστήστε με φρέσκο καλλιεργητικό υλικό. Προσθέστε τουλάχιστον 2ml φρέσκου καλλιεργητικού υλικού σε γυάλινα φιαλίδια καλλιέργειας (16x125mm) ή προσθέστε τουλάχιστον 1ml φρέσκου καλλιεργητικού υλικού σε φιαλίδια dram.
3. Προσθέστε 0,2-0,5ml του δείγματος σε κάθε φιαλίδιο καλλιέργειας και επώαστε για 60 λεπτά στους 35-37°C. Προτείνεται τα δείγματα να ενοφθαλμίζονται εις διπλούν.  
[ΣΗΜΕΙΩΣΗ: η ικκή προσκόλληση του δείγματος και/ή η χαμηλή φυγοκέντρωση μπορεί να προάγουν την απομόνωση κάποιων ιών, και η ΚΔ μπορεί να εμφανιστεί μέσα σε 48 ώρες].
4. Για να διασφαλιστεί η ευαισθησία της μόλυνσης και η κατάλληλη ΚΔ θα πρέπει να χρησιμοποιείται αντιπροσωπευτικό (εμπορικό) στέλεχος ιού για ενοφθαλμισμό της κυτταρικής σειράς. Μετά την περίοδο ενοφθαλμισμού, επικαλύψτε τα κύτταρα με φρέσκο καλλιεργητικό υλικό και επώαστε σε σταθερή θέση στους 35-37°C.
5. Το καλλιεργητικό υλικό πρέπει να ανανεώνεται κάθε 3 με 4 ημέρες για να προωθηθεί ο σχηματισμός ΚΔ.
6. Εξετάστε τα κύτταρα καθημερινά για ΚΔ.
7. Όταν παρατηρήσετε την ΚΔ μονιμοποιήστε τα κύτταρα (όπως φαίνεται στη συνέχεια) σε προετοιμασία για τη χρώση επιβεβαίωσης.
8. Αναρροφήστε το καλλιεργητικό υλικό με τη χρήση στείρας πιπέττας και φυλάξτε σε στείρο δοχείο. (Η ανακαλλιέργεια μπορεί να πραγματοποιηθεί από αυτό το υλικό αν η κυτταροκαλλιέργεια καταστραφεί κατά τη διάρκεια της χρώσης).
9. Ξεπλύνετε τα κύτταρα προσεκτικά 3 φορές με 1-2ml Hank's. Απορρίψτε τα εκπλύματα σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου.
10. Προσθέστε ένα δέκατο του όγκου της καλλιέργειας θρυψίνη (0.05%) Νάτριο – EDTA (0,53mM) και αφήστε για 30 δεύτερα.
11. Με προσοχή χτυπήστε τη φιάλη της καλλιέργειας για να αποκολληθούν τα κύτταρα.
12. Προσθέστε ικανή ποσότητα φρέσκου καλλιεργητικού υλικού για να επαναφέρετε στον αρχικό όγκο καλλιέργειας.
13. Φυγοκεντρήστε το κυτταρικό εναιώρημα σε 200-500 x g για 7-10 λεπτά.
14. Επαναδιαλυτοποιήστε το κυτταρικό ίζημα σε αρκετές σταγόνες στείρου PBS για να αποκτήσετε σχετικά πυκνό εναιώρημα (περίπου  $2 \times 10^6$  κύτταρα/ml).
15. Τοποθετήστε μία κηλίδα του κυτταρικού εναιωρήματος σε τουλάχιστον 1 πλακίδιο ελέγχου (2 βυθίσματα) και σε ένα πλακίδιο αναγνώρισης (8 βυθίσματα) και στεγνώστε σε κλίβανο (30-35°C) ή στεγνώστε γρήγορα σε θερμοκρασία δωματίου.  
[ΣΗΜΕΙΩΣΗ: συνιστώνται βυθίσματα με διάμετρο 5 mm]
16. Μονιμοποιήστε τα πλακίδια σε παγωμένη ακετόνη (2-4°C) για 10 λεπτά και στεγνώστε στον αέρα.
17. Φυλάξτε τα μη-χρησιμοποιημένα πλακίδια σε δοχείο με ξηραντικό υλικό στους -20°C.

## Διαδικασία Προσδιορισμού

### Προετοιμασία Αντιδραστηρίων

Παρασκευή Πλυστικού Διαλύματος (PBST):

1. Διαλυτοποιήστε το περιεχόμενο του φακέλλου PBS σε 990ml απεσταγμένου νερού.
2. Σε 495ml από αυτό το διάλυμα, προσθέστε 5ml Tween 20/αζίδιο του νατρίου (συμπυκνωμένο 100x) και ανακατεψτε καλά.  
[ΣΗΜΕΙΩΣΗ: το υπόλοιπο PBS πρέπει να απορριφθεί].
3. Μεταφέρετε σε καθαρό δοχείο με ετικέτα και κλείστε καλά.

Όλα τα υπόλοιπα αντιδραστήρια είναι **έτοιμα προς χρήση** και είναι στις κατάλληλες αραιώσεις.

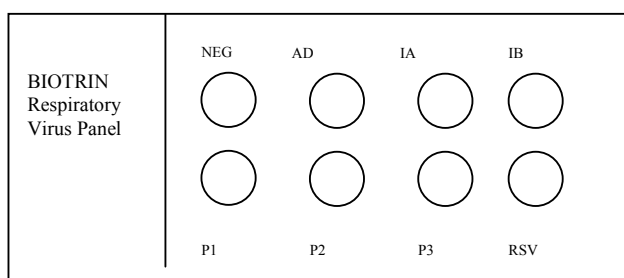


Figure 1 Δείγμα πλακιδίου αντιγονικού ελέγχου

### Συνολικός Έλεγχος Δείγματος

1. Αποσύρατε τα πλακίδια ελέγχου δειγμάτων (2 βυθίσματα) και ένα πλακίδιο αντιγονικού ελέγχου από τη φύλαξη, και επιτρέψτε να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου.
2. Προσθέστε μία σταγόνα (40μl) αντιδραστηρίου αντί-ικού συνολικού ελέγχου στο ένα βύθισμα του πλακιδίου ελέγχου δειγμάτων και σε κάθε βύθισμά ελέγχου αντιγόνου στο πλακίδιο αντιγονικού ελέγχου. [ΣΗΜΕΙΩΣΗ: το αντιδραστήριο αντί-ικού συνολικού ελέγχου χρησιμοποιείται για να διαπιστωθεί η παρουσία αδενοϊού, γρίπης A, γρίπης B, παραγρίπης 1, παραγρίπης 2, παραγρίπης 3, ή RSV].
3. Προσθέστε μία σταγόνα (40μl) φυσιολογικού αντισώματος μύος σε ένα δεύτερο βύθισμα του πλακιδίου ελέγχου δειγμάτων και στο αρνητικό βύθισμα του πλακιδίου αντιγονικού ελέγχου.  
[ΣΗΜΕΙΩΣΗ: ο αρνητικός έλεγχος επιτρέπει την ανίχνευση του μη-ειδικού φθορισμού].
4. Επωάστε τα πλακίδια ελέγχου δειγμάτων και αντιγονικού ελέγχου για 30 λεπτά στους 37°C σε υγρό θάλαμο.

5. Ξεπλύνετε τα πλακίδια καλά με Πλυστικό Διάλυμα για 10-15 δεύτερα. Τινάζτε το επιπλέον πλυστικό διάλυμα από τα πλακίδια και στεγνώστε μεταξύ των βυθισμάτων.
6. Προσθέστε μία σταγόνα (40μl) αντιδραστηρίου σύζευξης IgG FITC αντί-μυός σε κάθε βύθισμα στα πλακίδια ελέγχου δειγμάτων και αντιγονικού ελέγχου.
7. Επωάστε τα πλακίδια ελέγχου δειγμάτων και αντιγονικού ελέγχου για 30 λεπτά στους 37°C σε υγρό θάλαμο.
8. Ξεπλύνετε τα πλακίδια καλά με Πλυστικό Διάλυμα για 10-15 δεύτερα Τινάζτε το επιπλέον πλυστικό διάλυμα από τα πλακίδια και στεγνώστε μεταξύ των βυθισμάτων.
9. Στερεώστε τα πλακίδια με καλυπτρίδες no. 1 και στερεωτικό μέσο. Αποσύρατε το περίσσειμα του στερεωτικού μέσου από τα πλακίδια.
10. Εξετάστε τα πλακίδια σε μικροσκόπιο φθορισμού σε μεγέθυνση 100-200x. Η λεπτομερής εξέταση μπορεί να συνεχιστεί σε μεγέθυνση 400x. [ΣΗΜΕΙΩΣΗ: το πλακίδιο ελέγχου θα πρέπει να εξεταστεί πρώτο για να διαπιστωθεί η κατάλληλη χρώση].
11. Εάν τα πλακίδια ελέγχου είναι αρνητικά, θα πρέπει να αναφέρονται σαν «δεν παρατηρήθηκε παρουσία ιού». Προχωρήστε στο βήμα 12 για όλα τα δείγματα τα οποία είναι θετικά.

### ***Ταυτοποίηση Ιών***

12. Απομακρύνετε τα πλακίδια ταυτοποίησης ιών (8 βυθίσματα) που αντιστοιχούν σε κάθε θετικό δείγμα και ένα πλακίδιο αντιγονικού ελέγχου από τη φύλαξη. Επιτρέψτε να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου.
13. Προσθέστε μία σταγόνα (40μl) από κάθε μονοκλωνικό αντίσωμα σε κάθε βύθισμα του πλακιδίου ταυτοποίησης δειγμάτων.
14. Προσθέστε μία σταγόνα (40μl) από κάθε μονοκλωνικό αντίσωμα σε κάθε βύθισμα του πλακιδίου αντιγονικού ελέγχου.
15. Προσθέστε μία σταγόνα (40μl) αρνητικού ελέγχου σε ένα ξεχωριστό βύθισμα του πλακιδίου ταυτοποίησης δειγμάτων και στο αρνητικό βύθισμα του πλακιδίου αντιγονικού ελέγχου.
16. Επωάστε τα πλακίδια δειγμάτων και ελέγχου για 30 λεπτά στους 37°C σε υγρό θάλαμο.
17. Ξεπλύνετε τα πλακίδια καλά με πλυστικό διάλυμα για 10-15 δεύτερα. Τινάζτε την περίσσεια πλυστικού διαλύματος από τα πλακίδια και στεγνώστε μεταξύ των βυθισμάτων.
18. Προσθέστε μία σταγόνα (40μl) αντιδραστηρίου σύζευξης IgG FITC αντί-μυός σε κάθε βύθισμα στα πλακίδια ελέγχου δειγμάτων και ελέγχου.
19. Επωάστε τα πλακίδια ελέγχου δειγμάτων και ελέγχου για 30 λεπτά στους 37°C σε υγρό θάλαμο.
20. Ξεπλύνετε τα πλακίδια καλά με Πλυστικό Διάλυμα για 10-15 δεύτερα Τινάζτε την περίσσεια πλυστικού διαλύματος από τα πλακίδια και στεγνώστε μεταξύ των βυθισμάτων.
21. Στερεώστε τα πλακίδια με καλυπτρίδες no. 1 και στερεωτικό μέσο. Απομακρύνετε την περίσσεια του στερεωτικού μέσου από τα πλακίδια.

[ΣΗΜΕΙΩΣΗ: τα πλακίδια μπορεί να φυλαχτούν στο σκοτάδι, σε καλά κλεισμένο δοχείο στους 2-8°C για 24 ώρες χωρίς σημαντική απώλεια φθορισμού.

Εντούτοις, προτείνεται η άμεση παρατήρηση μετά τη χρώση. Για μεγαλύτερη σε διάρκεια φύλαξη, τα πλακίδια πρέπει να κρατούνται σε καλά κλεισμένο δοχείο στους -20°C ή χαμηλότερα].

### **Ερμηνεία Αποτελεσμάτων**

Οι τυπικές μορφές φθορισμού που παρουσιάζονται από τον μολυσματικό ιό, περιγράφονται παρακάτω. Ο τύπος φθορισμού που απαντάται στο πλακίδιο εξαρτάται από τον ιό/ιούς και αντανακλά τον τρόπο ανάπτυξής τους.

**Αδενοϊός** Ο λαμπερός πράσινος φθορισμός είναι πυρηνικός, κυτταροπλασματικός, ή και τα δύο. Ο πυρηνικός φθορισμός είναι ομοιόμορφα λαμπερός με μικρή σαφήνεια περιγράμματος. Ο κυτταροπλασματικός φθορισμός είναι συχνά διακοπτόμενος.

**Γρίπη Α και Β** Ο λαμπερός πράσινος φθορισμός είναι πυρηνικός, κυτταροπλασματικός, ή και τα δύο. Ο πυρηνικός φθορισμός είναι ομοιόμορφα λαμπερός με μικρή σαφήνεια περιγράμματος. Ο κυτταροπλασματικός φθορισμός είναι συχνά διακοπτόμενος με μεγάλα σημεία πολλαπλασιασμού (inclusions).

**Παραγρίπη 1, 2, και 3** Ο λαμπερός πράσινος φθορισμός περιορίζεται στο κυτταρόπλασμα. Ο κυτταροπλασματικός φθορισμός είναι διακοπτόμενος με ακανόνιστα σημεία πολλαπλασιασμού.

**Αναπνευστικός Συγκυτιακός Ιός** Ο λαμπερός πράσινος φθορισμός απαντάται στο κυτταρόπλασμα και συνδέεται με τα συγκύτια. Ο κυτταροπλασματικός φθορισμός είναι συχνά διακοπτόμενος με μικρά σημεία πολλαπλασιασμού.

**Αρνητικά Κύτταρα** Τα κύτταρα βάφονται με θαμπό κόκκινο χρώμα στο κυτταρόπλασμα και με βαθύ βυσσινί, σχεδόν μαύρο, στον πυρήνα. Η χρώση των κυττάρων αυτών οφείλεται στην παρουσία του κυανού του Evans.

Συνιστάται να ελέγχονται πρώτα τα αρνητικά κύτταρα για να διαπιστωθεί εάν υπάρχει φθορισμός υποβάθρου.

Ένα δείγμα θεωρείται θετικό για κάποιον ιό εάν παρατηρούνται τουλάχιστον 2 ή περισσότερα λαμπερά πράσινα κύτταρα ανά πεδίο, σε μεγέθυνση 400x.

Ο θετικός έλεγχος θα πρέπει να δείχνει κύτταρα που να επιδεικνύουν φθορισμό στον πυρήνα, το κυτταρόπλασμα ή και στα δύο, γεγονός που εξαρτάται από το στάδιο της

ανάπτυξης. Ο αρνητικός έλεγχος πρέπει να επιδεικνύει μία θαμπή κόκκινη χρώση η οποία οφείλεται στην παρουσία του κυανού του Evans.

[ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ο αποσπασματικός φθορισμός σε διάφορα μέρη των κυττάρων πρέπει να αγνοείται: αυτό μπορεί να οφείλεται σε παγίδευση του αντιδραστηρίου σύζευξης σε υπολείμματα. Εάν το πλακίδιο ελέγχου επιδεικνύει θετικό αποτέλεσμα, ενώ το πλακίδιο ταυτοποίησης δεν επιδεικνύει θετικό αποτέλεσμα, η δοκιμασία πρέπει να επαναληφθεί για την επιβεβαίωση του αποτελέσματος].

### Αναμενόμενες τιμές

Τα αποτελέσματα απομόνωσης και ταυτοποίησης θα μεταβάλλονται ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή, την ηλικία του πληθυσμού, την εποχή του χρόνου (κάποιοι ιοί είναι εποχιακοί), κοινωνικό-οικονομικό επίπεδο, μεταχείριση δειγμάτων και το είδος του συστήματος ανίχνευσης που χρησιμοποιείται.

Για την περίοδο Σεπτεμβρίου - Ιουλίου (1991-1992) ελήφθησαν οι παρακάτω βαθμοί ανίχνευσης: \*

Αναπνευστικός Ιός	Βαθμοί ανίχνευσης (αριθμός δειγμάτων)	Βαθμοί ανίχνευσης (%)
Αδενοϊός	43/646	6,7%
Γρίπη Α	11/646	1,7%
Γρίπη Β	4/646	0,6%
Παραγρίπη 1	11/646	1,7%
Παραγρίπη 2	5/646	0,8%
Παραγρίπη 3	28/646	4,3%
RSV	66/646	10,2%

\*Οι χώροι για τις αποτιμήσεις συμπεριελάμβαναν Νοσοκομεία, Νοσοκομεία παιδών, Πανεπιστήμια, και εργαστήρια αναφοράς στις Η.Π.Α.

### Περιορισμοί Χρήσης

- Οι θετικοί και αρνητικοί έλεγχοι θα έπρεπε να εξεταστούν με κάθε δείγμα και πρέπει να δώσουν την κατάλληλη χρώση για να είναι έγκυρη η δοκιμασία. [ΣΗΜΕΙΩΣΗ: επιπρόσθετα πλακίδια ελέγχου είναι διαθέσιμα – Αρ. Κατ: V4RVPS (5 ανά συσκευασία)].
- Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει την παρουσία αδενοϊού, γρίπης Α & Β, παραγρίπης 1, 2 & 3, ή RSV. Τα αποτελέσματα θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τις κλινικές πληροφορίες για τον ασθενή και άλλες διαγνωστικές διαδικασίες. Η αποτυχία να ανιχνευθεί ιός μπορεί να είναι το αποτέλεσμα παραγόντων όπως ακατάλληλης συλλογής ή διαχείρισης δειγμάτων ή ακατάλληλες τεχνικές καλλιιεργειών ή η χρήση ακατάλληλης κυτταρικής σειράς ή

θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της απομόνωσης. Όλα τα αρνητικά αποτελέσματα θα πρέπει να αναφέρονται ως «δεν παρατηρήθηκε παρουσία ιού».

- Τα μονοκλωνικά αντισώματα σε αυτό το διαγνωστικό σύνολο είναι ειδικά για τις ομάδες του αδενοϊού και του RSV: για το λόγο αυτό, δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για διαφοροποίηση μεταξύ των διαφορετικών τύπων.
- Δείγματα επιμολυσμένα με *Staphylococcus aureus* μπορεί να παρουσιάσουν ένα θαμπό κίτρινο-πράσινο φθορισμό λόγω της παρουσίας μεγάλων ποσοτήτων πρωτεΐνης A. Ο φθορισμός είναι αποτέλεσμα μη-ειδικής πρόσδεσης της πρωτεΐνης A στα τμήματα F<sub>c</sub> των αντισωμάτων.

## Χαρακτηριστικά Απόδοσης

- *Κλινική Σύγκριση Επιβεβαίωσης με Κυτταροκαλλιέργεια*

Τα παρακάτω αποτελέσματα ελήφθησαν όταν πραγματοποιήθηκε επιβεβαίωση με κυτταροκαλλιέργεια σε αναπνευστικά δείγματα (εξετάστηκε σύνολο από 646 δείγματα):

<b>ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ:</b>	<b>Adeno</b>	<b>RSV</b>	<b>Inf. A</b>	<b>Inf. B</b>	<b>Para 1</b>	<b>Para 2</b>	<b>Para 3</b>
Συνολικά θετικά	43	66	11	4	11	5	28
Ευαισθησία %	97,7	100	100	100	100	100	100
Ειδικότητα %	100	100	100	100	100	100	100
Προγνωστική τιμή (+) %	100	100	100	100	100	100	100
Προγνωστική τιμή (-) %	99,8	100	100	100	100	100	100

Τα παρακάτω αποτελέσματα ελήφθησαν όταν πραγματοποιήθηκε επιβεβαίωση με κυτταροκαλλιέργεια σε κατεψυγμένα αναπνευστικά δείγματα (εξετάστηκε σύνολο από 151 δείγματα):

<b>ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ:</b>	<b>Adeno</b>	<b>RSV</b>	<b>Inf. A</b>	<b>Inf. B</b>	<b>Para 1</b>	<b>Para 2</b>	<b>Para 3</b>
Συνολικά θετικά	7	3	30	36	33	5	16
Ευαισθησία %	100	100	100	100	100	100	100
Ειδικότητα %	100	100	100	100	100	100	100
Προγνωστική τιμή (+) %	100	100	100	100	100	100	100
Προγνωστική τιμή (-) %	100	100	100	100	100	100	100

- *Cross Reactivity*

Τα παρακάτω αποτελέσματα ελήφθησαν από μελέτες ανίχνευσης ιών και βακτηρίων με κάθε μονοκλωνικό αντίσωμα.

<b>MONOKΛΩΝΙΚΑ ANTISΩΜΑΤΑ:</b>	<b>Adeno</b>	<b>RSV</b>	<b>Influ A</b>	<b>Influ B</b>	<b>Para 1</b>	<b>Para 2</b>	<b>Para 3</b>
<b>Adenoviruses</b>	+	-	-	-	-	-	-
<b>Coronaviruses</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Coxsackievirus</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Echoviruses</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Herpes viruses</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Influenza virus Type A</b>	-	-	+	-	-	-	-
<b>Influenza virus Type B</b>	-	-	-	+	-	-	-
<b>Measles virus</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mumps virus</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Parainfluenza Type 1</b>	-	-	-	-	+	-	-
<b>Parainfluenza Type 2</b>	-	-	-	-	-	+	-
<b>Parainfluenza Type 3</b>	-	-	-	-	-	-	+
<b>Rhinoviruses</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Simian virus</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSV</b>	-	+	-	-	-	-	-
<b>Acholeplasma laidlawii</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Bordetella bronchiseptica</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Bordetella pertussis</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Bordetella parapertussis</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Branhamella catarrhalis</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Chlamydia trachomatis</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Corynebacterium diphtheriae</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Legionella micdadei</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Legionella pneumophila</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mycobacterium avium</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mycobacterium intracellularae</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mycobacterium tuberculosis</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mycoplasma fermentans</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mycoplasma hominis</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mycoplasma orale</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mycoplasma pneumoniae</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Neisseria meningitidis</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Ureaplasma urealyticum</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Έλεγχος Ξενιστή</b>	<b>Κυττάρου</b> ↓	Όλα τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν εξεταστεί και είναι αρνητικά για τους παρακάτω κυτταρικούς ελέγχους					

<b>Adenovirus</b>	ρHEK, HEp-2, NCI-H292, RD, HLF, HeLa, & A549 κυτταρικοί έλεγχοι
<b>Polyomaviruses</b>	PMK κυτταρικός έλεγχος
<b>Enteroviruses</b>	RD & HLF κυτταρικοί έλεγχοι
<b>Paramyxoviruses</b>	HEp-2, Vero, & PMK κυτταρικοί έλεγχοι

**Περίληψη Διαδικασίας του Διαγνωστικού Συνόλου για την ανίχνευση  
Αναπνευστικών Ιών**

**Σημαντική Σημείωση:** Παρακαλούμε διαβάστε ολόκληρο το φύλλο οδηγιών του προϊόντος πριν ξεκινήσετε τη διαδικασία. Αυτή η περίληψη προορίζεται μόνο για γρήγορη παραπομπή.

**Έλεγχος Δειγμάτων**

Προσθέσατε μία σταγόνα (40μl) αντιδραστηρίου αντί-ικού ελέγχου σε ένα βύθισμα του πλακιδίου ελέγχου δειγμάτων και κάθε βύθισμα αντιγονικού ελέγχου του πλακιδίου αντιγονικού ελέγχου



Προσθέσατε μία σταγόνα (40μl) φυσιολογικού αντισώματος μύος σε ένα δεύτερο βύθισμα του πλακιδίου ελέγχου δειγμάτων και στο αρνητικό βύθισμα του πλακιδίου αντιγονικού ελέγχου



Επώαστε τα πλακίδια για 30 λεπτά στους 37°C σε υγρό θάλαμο



Ξεπλύνετε τα πλακίδια καλά



Προσθέσατε μία σταγόνα (40μl) αντιδραστηρίου σύζευξης IgG FITC αντί-μύος



Επώαστε τα πλακίδια για 30 λεπτά στους 37°C σε υγρό θάλαμο



Ξεπλύνετε τα πλακίδια καλά



Στερεώσατε τα πλακίδια με στερεωτικό μέσο και καλυπτρίδες



Εξετάσατε τα πλακίδια σε μικροσκόπιο φθορισμού



**Αναγνώριση των ιών για τα θετικά δείγματα από τον παραπάνω έλεγχο**  
(βλέπε επόμενη σελίδα)

## Περίληψη Διαδικασίας του Διαγνωστικού Συνόλου για την ανίχνευση Αναπνευστικών Ιών

**Σημαντική Σημείωση:** Παρακαλούμε διαβάστε ολόκληρο το φύλλο οδηγιών του προϊόντος πριν ξεκινήσετε τη διαδικασία. Αυτή η περίληψη προορίζεται μόνο για γρήγορη παραπομπή.

### Αναγνώριση Ιών

Προσθέσατε μία σταγόνα (40μl) από κάθε μονοκλωνικό αντίσωμα σε κάθε βύθισμα στο πλακίδιο αναγνώρισης δειγμάτων.



Προσθέσατε μία σταγόνα (40μl) από κάθε μονοκλωνικό αντίσωμα στο αντίστοιχο βύθισμα στο πλακίδιο αντιγονικού ελέγχου.



Προσθέσατε μία σταγόνα (40μl) φυσιολογικού αντισώματος μύος σε ξεχωριστό βύθισμα στο πλακίδιο αναγνώρισης δειγμάτων και στο αρνητικό βύθισμα του πλακιδίου αντιγονικού ελέγχου.



Επώαστε τα πλακίδια για 30 λεπτά στους 37°C σε υγρό θάλαμο



Ξεπλύνετε τα πλακίδια καλά.



Προσθέσατε μία σταγόνα (40μl) αντιδραστηρίου σύζευξης IgG FITC αντί-μύος σε όλα τα βυθίσματα.



Επώαστε τα πλακίδια για 30 λεπτά στους 37°C σε υγρό θάλαμο



Ξεπλύνετε τα πλακίδια καλά.



Στερεώσατε τα πλακίδια με στερεωτικό μέσο και καλυπτρίδες



Εξετάσατε τα πλακίδια σε μικροσκόπιο φθορισμού

## Επεξήγηση Συμβόλων

*In-vitro* Διαγνωστική Ιατροτεχνολογικό  
Προϊόν

IVD

Αριθμός παρτίδας

LOT

Αριθμός καταλόγου

REF

Περιορισμοί θερμοκρασίας



Ημερομηνία λήξης



Κατασκευαστής



Βιολογικοί κίνδυνοι



## **Βιβλιογραφία / Παραπομπές**

1. **Wadell, G.** (1987) Adenoviruses. In principles and practice of clinical virology (Eds. Zuckerman et al) John Wiley and Sons Ltd.
2. **Horowitz, M.S.** (1985) Adenovirus diseases. In Virology 9. (Eds. Fields B.N. et al.) Raven Press New York pp 477-495.
3. **Hierholzer, J.** Adenoviruses. Ch. 86 In : Manual of Clinical Microbiology. 5<sup>th</sup> Ed. (Eds Balows et al). ASM Washington D.C. pp 896.
4. **Bell J. et al** (1955) Pharyngoconjunctival fever. Epidemiological studies of a recently recognised disease entity. JAMA 175, pp1083-1092.
5. **Kasel, J** (1980) Adenoviruses Ch. 9 In : Viral Rickettsial and Chlamydial Infections. American Publ. Health Assos. (Eds. Lennett, E. and Schmidt, N.)
6. **Cooney, MK.** (1985) Adenoviruses. In Manual of Clinical Microbiology, 4<sup>th</sup> Ed. (Eds. Lennett, E. et al) American Society for Microbiology, Washington.
7. **Harmon M.W. and Kendal A.P.** Influenza Viruses. Ch. 81 In : Manual of Clinical Microbiology. 5<sup>th</sup> Ed. (Eds Balows et al). ASM Washington pp868.
8. **Glezen WP, Paredes A, Taber LH.** Influenza in children. Relationship to other respiratory agents. JAMA 1980; 243: 1345-1349.
9. **Frank, A.L et al** (1979) Comparison of different tissue cultures for isolation and quantitation of influenza and parainfluenza viruses. J. Clin. Microbiol. 10
10. **McIntosh, K and Chancock, R.M.** (1990) Parainfluenza viruses. Ch 35 In Fields Virology Vol. 1 (Eds Fields B.N and Knipes D.M). Raven Press New York, p 963.
11. **McIntosh, K and Chancock, R.M.** (1990) Respiratory syncytial virus. Ch 38 In Fields Virology Vol. 1 (Eds Fields B.N and Knipes D.M). Raven Press New York, p 1045.
12. **Zinsser Microbiology.** (Eds. Joklik W.K. et al) 19<sup>th</sup> Edn. Appleton & Lange.
13. **Gardner, P.S. and McQuillin** (1980) Rapid Virus Diagnosis- applications of immunofluorescence. 2<sup>nd</sup> Ed. Butterworth and Co. Ltd. London.
14. **Ahulwalia, G et al.** (1987) comparison of nasopharyngeal aspirate and nasopharyngeal swab specimens for respiratory syncytial virus diagnosis by cell culture, indirect immunofluorescence assay, and enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol 25:763-767.
15. **Chernesky, M.A et al** (1982) Laboratory diagnosis of viral infections. Coordinating Ed. Drew E.L. American Society for Microbiology, Washington.
16. **Hall, C.B.** (1985) Acute laryngotracheobronchitis and croup p. 360-364 in Principles and practice of infectious diseases. (Eds. Mandell G et al.). Wiley and Sons, Inc. New York.

## Επιπρόσθετα Προϊόντα της Biotrin

Κατ #:	Περιγραφή	Assay Format
V3HHV6	Human Herpesvirus 6 IgG IFA	4 x 10 well slide
V17HHV6	Human Herpesvirus 6 IgM IFA	4 x 10 well slide
V15HHV6	Human Herpesvirus 6 IgG EIA	96 well EIA
V18HHV8	Human Herpesvirus 8 IgG IFA	6 x 10 well slide
V19HHV8	Human Herpesvirus 8 IgG EIA	96 well EIA
V119IF	Parvo IgG & IgM IFA	6 x 10 well slide
V519IG	Parvo IgG EIA	96 well EIA
V619IM	Parvo IgM EIA	96 well EIA
*V519IGUS	Parvo IgG EIA	96 well EIA
*V619IMUS	Parvo IgM EIA	96 well EIA

\* FDA Cleared Parvovirus B19 Assays



Biotrin International Ltd.  
93 The Rise, Mount Merrion  
Co Dublin  
Ireland  
Tel: + 353 (01) 2831166  
Fax: + 353 (01) 2831232  
e-mail: [info@biotrin.ie](mailto:info@biotrin.ie)  
[www.biotrin.com](http://www.biotrin.com)

Document Code: RVP-324-02 06/09