

**ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ
ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΑ ΓΙΑ ΔΙΑΘΕΣΗ ΣΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ
(bioMérieux ref. 39203 / Hologic Cat. No. 102875)**

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ είναι μια ταχεία εξέταση με ανιχνευτή DNA (DNA probe) η οποία χρησιμοποιεί την τεχνική υβριδισμού νουκλεϊνικού οξέως για την ταυτοποίηση του *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) που απομονώνεται από καλλιέργεια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Ο *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) είναι ο αιτιολογικός παράγοντας για μεγάλη ποικιλία λοιμώξεων στον άνθρωπο συμπεριλαμβανομένων νοσημάτων του δέρματος και των μαλακών ιστών. Οι φλύκταινες του δέρματος, το έκζεμα καθώς και πιο σοβαρές λοιμώξεις όπως βακτηριαιμία, οστεομυελίτιδα, νεφρικό απόστημα, πνευμονία, ενδοκαρδίτιδα, μηνιγγίτιδα, γαστρεντερίτιδα και σύνδρομο τοξικού σοκ είναι μερικές από αυτές τις νόσους (3). Ο *S. aureus* εξακολουθεί να είναι ο κύριος παράγοντας νοσοκομειακών λοιμώξεων. Τα ανθεκτικά στη μεθυκιλλίνη στελέχη (MRSA) έχουν εμφανιστεί ως μείζον επιδημιολογικό πρόβλημα σε νοσοκομεία στις Ηνωμένες Πολιτείες.

Εντός του γένους *Staphylococcus*, ο *S. aureus* είναι το πιο σημαντικό κλινικά είδος λόγω του επιπολασμού και της σοβαρότητας των λοιμώξεων που μπορεί να προκαλέσει (6).

Οι τρέχουσες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση του *S. aureus* περιλαμβάνουν μορφολογία χρώσης Gram, μορφολογία κυττάρων, παραγωγή καταλάσης, παραγωγή κοαγκουλάσης, παραγωγή χρωστικής, ευαισθησία στη λυσοσταφίνη και λυσοζύμη, και αναερόβια παραγωγή οξέων από γλυκόζη (4). Επιπλέον, υπάρχουν ορισμένα συστήματα του εμπορίου που επιτρέπουν το βιοχημικό χαρακτηρισμό των στελεχών.

Μεταξύ των ειδών *Staphylococcus* που σχετίζονται με λοιμώξεις στον άνθρωπο, ο *S. aureus* είναι μοναδικός για την ικανότητά του να προκαλεί θρόμβωση στο αίμα (κοαγκουλάση). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ορισμένα είδη *Staphylococcus* που βρίσκονται στα ζώα, όπως ο *S. intermedius* και *S. hyicus* μπορεί να διαθέτουν επίσης αυτή την ιδιότητα. Δύο διαφορετικές εξετάσεις κοαγκουλάσης χρησιμοποιούνται συνήθως για την ταυτοποίηση του *S. aureus*. Η μία είναι μια εξέταση σωληναρίου για ελεύθερη κοαγκουλάση και η άλλη είναι μια εξέταση πλακιδίου συνδεδεμένης κοαγκουλάσης. Η εξέταση κοαγκουλάσης σωληναρίου θεωρείται η πιο καθοριστική από τις δύο, ωστόσο, μπορεί να χρειαστεί από μερικές ώρες μέχρι ολόκληρη τη νύχτα για να αποδώσει αποτέλεσμα. Η εξέταση κοαγκουλάσης πλακιδίου μπορεί να δώσει αρνητικό αποτέλεσμα μέχρι και σε 10 έως 15 τοις εκατό των στελεχών *S. aureus* (2).

Λόγω της ύπαρξης προβληματικών κλινικών απομονωμένων στελεχών που μπορεί να μην ταυτοποιούνται χρησιμοποιώντας τις τρέχουσες μεθόδους και λόγω των θετικών στην κοαγκουλάση στελεχών που σχετίζονται με ζώα, απαιτείται μια εναλλακτική ταχεία και ακριβής μέθοδος ταυτοποίησης. Σε κλινικές μελέτες η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ανίχνευσε όλα τα γνωστά ανθεκτικά στη μεθυκιλλίνη στελέχη *S. aureus* που εξετάστηκαν.

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ προσφέρει μια ταχεία, αντικειμενική μέθοδο για την καθοριστική ταυτοποίηση του *S. aureus* που βασίζεται στην ανίχνευση ειδικών αλληλουχιών ριβοσωμικού RNA που είναι μοναδικές στον *S. aureus*.

ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Οι εξετάσεις υβριδισμού νουκλεϊνικών οξέων βασίζονται στην ικανότητα των συμπληρωματικών αλυσίδων νουκλεϊνικών οξέων να παρατάσσονται η μία απέναντι στην άλλη και να συνδέονται μεταξύ τους ειδικά σχηματίζοντας σταθερά δίκλινα σύμπλοκα (5). Το σύστημα AccuProbe χρησιμοποιεί ένα μονόκλωνο ανιχνευτή DNA με σήμανση χημειοφωταύγειας ο οποίος είναι συμπληρωματικός στο ριβοσωμικό RNA του οργανισμού στόχου. Αφού απελευθερωθεί το ριβοσωμικό RNA από τον οργανισμό, ο σημασμένος ανιχνευτής DNA ενώνεται με το ριβοσωμικό RNA του οργανισμού στόχου για να σχηματίσει ένα σταθερό υβρίδιο DNA:RNA. Το Αντιδραστήριο Επιλογής επιτρέπει τη διαφοροποίηση του μη υβριδοποιημένου από τον υβριδοποιημένο ανιχνευτή. Τα σημασμένα υβρίδια DNA:RNA μετρώνται στον αναλυτή χημειοφωταύγειας Hologic. Ένα θετικό αποτέλεσμα είναι μια ανάγνωση στον αναλυτή χημειοφωταύγειας ίση ή μεγαλύτερη από το cut-off. Μια τιμή μικρότερη από αυτό το cut-off είναι ένα αρνητικό αποτέλεσμα.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Σημείωση: Για πληροφορίες σχετικά με τυχόν δηλώσεις ασφάλειας και προφύλαξης που μπορεί να σχετίζονται με αντιδραστήρια, ανατρέξτε στη βιβλιοθήκη δελτίων δεδομένων ασφάλειας (Safety Data Sheet Library) στη διαδικτυακή τοποθεσία www.hologic.com/sds.

Τα αντιδραστήρια για την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ διατίθενται σε τρεις διαφορετικές συσκευασίες:

ACCUPROBE STAPHYLOCOCCUS AUREUS PROBE KIT (ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ACCUPROBE ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ STAPHYLOCOCCUS AUREUS)

Αντιδραστήριο Ανιχνευτή (Probe Reagent) (P) (4 x 5 σωληνάρια)
Staphylococcus aureus

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT (ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ)

Αντιδραστήριο 1 (Αντιδραστήριο Λύσης) (Lysing Reagent) (1) 1 x 10 mL
ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει 0,04% αζίδιο του νατρίου

Αντιδραστήριο 2 (Ρυθμιστικό Διάλυμα Υβριδισμού) (Hybridization Buffer) (2) 1 x 10 mL
ρυθμιστικό διάλυμα

Αντιδραστήριο 3 (Αντιδραστήριο Επιλογής) (Selection Reagent) (3) 1 x 60 mL
ρυθμιστικό διάλυμα

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT (ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ HOLOGIC ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ)

Αντιδραστήριο Ανίχνευσης I (Detection Reagent) (RI) 1 x 240 mL
0,1% υπεροξειδίου υδρογόνου σε 0,001 N νιτρικό οξύ.

Αντιδραστήριο Ανίχνευσης II (Detection Reagent) (RII) 1 x 240 mL
1 N υδροξειδίου του νατρίου

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

A Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

B. Χρησιμοποιείτε τις παγκόσμιες προφυλάξεις ασφαλείας όταν εκτελείτε αυτή την ανάλυση (1).

Γ. Χρησιμοποιείτε αποκλειστικά για την ταυτοποίηση του *S. aureus* που έχει απομονωθεί από καλλιέργεια.

Δ. Χρησιμοποιείτε αποκλειστικά τα παρεχόμενα ή ειδικά αναλώσιμα εργαστηριακά είδη.

Ε. Τα αντιδραστήρια που περιλαμβάνονται σε αυτή τη συσκευασία περιέχουν αζίδιο του νατρίου που μπορεί να αντιδράσει με μόλυβδο ή χαλκό υδραυλικών σωληνώσεων σχηματίζοντας δυνητικώς εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Μετά την απόρριψη αυτών των αντιδραστηρίων, αραιώνετε πάντα το υλικό με μεγάλη ποσότητα ύδατος για να αποφεύγεται η συσσώρευση αζιδίου στις υδραυλικές σωληνώσεις.

ΣΤ. Αποφεύγετε την επαφή των Αντιδραστηρίων Ανίχνευσης (Detection Reagent) I και II με το δέρμα, τα μάτια, και το βλεννογόνο. Εάν προκύψει επαφή του δέρματος με αυτά τα αντιδραστήρια ξεπλύνετε με νερό. Εάν συμβεί απόχυση αυτών των αντιδραστηρίων, αραιώστε με νερό πριν σκουπίσετε.

ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΦΥΛΑΞΗΣ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΥ

Τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή πρέπει να φυλάσσονται στους φακέλους από φύλλο αλουμινίου στους 2° έως 8°C. Τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή είναι σταθερά στους σφραγισμένους φακέλους μέχρι την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης. Μετά το άνοιγμα, ο φάκελος θα πρέπει να επανασφραγίζεται και τα σωληνάρια θα πρέπει να χρησιμοποιούνται εντός δύο μηνών και πριν από την ημερομηνία λήξης.

Άλλα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στην ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ μπορούν να φυλάσσονται μεταξύ 2° και 25°C και είναι σταθερά μέχρι την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.

ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ ΤΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ είναι σχεδιασμένη για την ταυτοποίηση του *S. aureus* που έχει απομονωθεί από καλλιέργεια.

A. Μέθοδος Στερεών Υλικών. Μπορεί να εξεταστεί η ανάπτυξη από κατάλληλα στερεά υλικά, με μορφολογία που υποδηλώνει σταφυλόκοκκους. Η καλλιέργεια θα πρέπει να είναι πιο πρόσφατη από 48 ώρες. Μπορεί να εξεταστεί μόλις είναι ορατή η ανάπτυξη.

1. Η ανάπτυξη μπορεί να αφαιρεθεί με ένα 1 mL πλαστικό κρίκο μιας χρήσης, συρμάτινο κρίκο, πλαστική βελόνα μιας χρήσης, ή με ράβδο εφαρμογής. Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται στυλεοί λόγω της μικρής ποσότητας υγρού στο οποίο κατόπιν επαναιωρούνται τα κύτταρα.
2. Εάν πρόκειται να εξεταστεί μια αποικία, θα πρέπει να έχει διάμετρο τουλάχιστον 1 mm. Ένας 1 mL κρίκος ανάπτυξης κυττάρων ή αρκετές (3 - 4) μικρότερες αποικίες μπορούν να εξεταστούν.
3. Αποφεύγετε να λαμβάνετε μέρος του στερεού υλικού μαζί με τα κύτταρα.
4. Ο χειριστής μπορεί να επιλέξει να ενοφθαλμίσει ένα άλλο τρυβλίο καλλιέργειας σε αυτή τη χρονική στιγμή για να επιβεβαιώσει την καθαρότητα του απομονωμένου στελέχους.

B. Μέθοδος Καλλιέργειας Ζυμού. Μπορούν να εξεταστούν κατάλληλες καλλιέργειες ζυμού, όπως Trypticase Soy ή Brain Heart Infusion με θολερότητα ισοδύναμη ή μεγαλύτερη συγκρινόμενη με την Πρότυπη Θολοσιμετρική κλίμακα McFarland 1. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν καλλιέργειες ζυμού, που έχουν επωαστεί μέχρι 72 ώρες στους 37°C. Εισάγετε ένα δείγμα 50 µL από το καλά αναμειγμένο εναιώρημα ζυμού στο Σωληνάριο με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή, όπως περιγράφεται παρακάτω.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

bioMérieux ref. 39203 / Hologic Cat. No. 102875

Αντιδραστήριο Ανιχνευτή (Probe Reagent) (P)

20 Εξετάσεις

4 x 5 σωληνάρια

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

1 mL στείροι πλαστικοί κρίκοι ενοφθαλμισμού, συρμάτινοι κρίκοι, πλαστικές βελόνες ή ράβδοι εφαρμογής για επιλογή αποικιών
Έλεγχος στελεχών καλλιέργειας
Συσκευή επώασης ή υδατόλουτρο (35° έως 37°C)
Υδατόλουτρο ή θερμαντική πλάκα* (60° ± 1°C)
Μικροδιανεμητές (Micropipettes) (50 µL, 300 µL)
Σύστημα επαναληπτικής αναρρόφησης (Re-pipettor) (50 µL, 300 µL)
Αναδευτήρας τύπου Vortex

*Οι θερμαντικές πλάκες θα πρέπει να διαθέτουν οπές κατάλληλου μεγέθους για σωληνάρια 12 x 75 mm. Συνιστάται η χρήση θερμαντικής πλάκας Hologic.

ΔΙΑΤΙΘΕΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΤΟΠΙΚΟ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΟ HOLOGIC

Hologic Leader 50i Luminometer (Αναλυτής χημειοφωταύγειας)
(bioMérieux ref. 39400 / Hologic Cat. No. 103100i)

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT
(ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ)
(bioMérieux ref. 39305 / Hologic Cat. No. 102800)

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT
(ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ HOLOGIC ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ)
(bioMérieux ref. 39300 / Hologic Cat. No. 201791)

Θερμαντική πλάκα (60° ± 1°C)
(bioMérieux ref. 39406)

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ**A. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΥ**

1. Ρυθμίστε τη συσκευή επώασης ή το υδατόλουτρο στους 35° έως 37°C.
2. Ρυθμίστε το υδατόλουτρο ή τη θερμαντική πλάκα στους 60° ± 1°C.
3. Ετοιμάστε τον αναλυτή χημειοφωταύγειας Hologic Leader για λειτουργία. Βεβαιωθείτε ότι υπάρχει αρκετή ποσότητα Αντιδραστηρίων Ανίχνευσης I και II για την ολοκλήρωση των εξετάσεων.

B. ΕΛΕΓΧΟΙ

Θετικά και αρνητικά στελέχη ελέγχου θα πρέπει να εξετάζονται τακτικά σε κάθε εργαστήριο σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς. Μια καλλιέργεια *S. aureus* (π.χ., American Type Culture Collection, ATCC #12600) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θετικός έλεγχος ενώ η καλλιέργεια *Staphylococcus epidermidis* (π.χ., ATCC #14990) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αρνητικός έλεγχος.

Γ. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

1. Ανοίξτε το φάκελο από φύλλο αλουμινίου κόβοντας σε ευθεία γραμμή κατά μήκος το επάνω μέρος του φακέλου. Αφαιρέστε αρκετά Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή για να εξετάσετε τα απομονωμένα στελέχη από καλλιέργεια ή/και τους ελέγχους. Ξανασφραγίστε το φάκελο διπλώνοντας το ανοιγμένο άκρο αρκετές φορές και ασφαλιζοντάς το με αυτοκόλλητη ταινία ή κλιπ. **Αφήστε τον αφυγραντή μέσα στον φάκελο.**
2. Επισημάνετε επαρκή αριθμό Σωληναρίων με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή για να εξετάσετε τα απομονωμένα στελέχη από καλλιέργεια ή/και τους ελέγχους. Αφαιρέστε και κρατήστε τα πώματα.
3. Εισάγετε 50 µL του Αντιδραστηρίου 1 (Αντιδραστήριο Λύσης) σε όλα τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή. Εάν πρόκειται να εξεταστούν καλλιέργειες ζυμού, μην προσθέτετε Αντιδραστήριο 1 στα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή.

4. Μεταφέρετε το δείγμα από στερεό υλικό ή 50 µL μιας καλά αναμεμιγμένης καλλιέργειας ζυμού στα σημασμένα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ. Περιστρέψτε τον κρίκο, τη βελόνα ή τη ράβδο στο μείγμα Αντιδραστηρίου 1 (Αντιδραστήριο Λύσης) για να αφαιρέσετε τα κύτταρα, εάν εξετάζεται ανάπτυξη σε στερεά υλικά και αναμείξτε καλά.

5. Καλύψτε ξανά τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή και επώαστε στους 35° έως 37°C για 5 λεπτά σε υδατόλουτρο ή 10 λεπτά στους 35° έως 37°C σε συσκευή επώασης.

Δ. ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ

1. Αφαιρέστε τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή από το υδατόλουτρο ή τη συσκευή επώασης. Αφαιρέστε και κρατήστε τα πώματα. Εισάγετε 50 µL του Αντιδραστηρίου 2 (Ρυθμιστικό Διάλυμα Υβριδισμού) σε όλα τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή.

2. Καλύψτε ξανά τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή και επώαστε για 15 λεπτά στους 60° ± 1°C σε υδατόλουτρο ή θερμομαντική πλάκα.

Ε. ΕΠΙΛΟΓΗ

1. Αφαιρέστε τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή από το υδατόλουτρο ή τη θερμομαντική πλάκα. Αφαιρέστε και κρατήστε τα πώματα. Εισάγετε 300 µL του Αντιδραστηρίου 3 (Αντιδραστήριο Επιλογής) σε κάθε σωληνάριο. Καλύψτε ξανά τα σωληνάρια και ανακινήστε με Vortex για να αναμειχθούν εντελώς.

2. Επώαστε τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή για 5 λεπτά στους 60° ± 1° σε υδατόλουτρο ή θερμομαντική πλάκα.

3. Αφαιρέστε τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή από το υδατόλουτρο ή τη θερμομαντική πλάκα και αφήστε τα σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά τουλάχιστον. Αφαιρέστε και απορρίψτε τα πώματα. **Διαβάστε τα αποτελέσματα στον αναλυτή χημειοφωταύγειας εντός 1 ώρας από την αφαίρεση τους από το υδατόλουτρο ή τη θερμομαντική πλάκα.**

ΣΤ. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ

1. Επιλέξτε το κατάλληλο πρωτόκολλο από το μενού του λογισμικού του αναλυτή χημειοφωταύγειας.

2. Χρησιμοποιώντας ένα υγρό λεπτό χαρτί ή απορροφητικό χαρτί, σκουπίστε κάθε σωληνάριο ώστε να διασφαλίσετε ότι δεν υπάρχουν υπολείμματα στο εξωτερικό του σωληναρίου, και εισάγετε το σωληνάριο στον αναλυτή χημειοφωταύγειας σύμφωνα με τις οδηγίες του οργάνου.

3. Όταν ολοκληρωθεί η ανάλυση, αφαιρέστε το(τα) σωληνάριο(α) από τον αναλυτή χημειοφωταύγειας.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΤΙΚΕΣ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ

A. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ: Το Αντιδραστήριο 2 (Ρυθμιστικό διάλυμα Υβριδισμού) ενδέχεται να δημιουργήσει ίζημα. Η θέρμανση και η ανάμειξη του διαλύματος στους 35° 60°C διαλύει το ίζημα.

B. ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ: Οι αντιδράσεις Προετοιμασίας Δείγματος, Υβριδισμού και Επιλογής εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Επομένως, είναι απαραίτητο να διατηρείται η συσκευή επώασης, το υδατόλουτρο ή η θερμομαντική πλάκα εντός του οριζόμενου εύρους θερμοκρασίας.

Γ. ΧΡΟΝΟΣ:

1. Η Αντίδραση Υβριδισμού θα πρέπει να αρχίζει εντός 1 ώρας από την προσθήκη των κυττάρων και το Αντιδραστήριο 1 στα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή.

2. Οι αντιδράσεις Υβριδισμού και Επιλογής εξαρτώνται από το χρόνο. Υποβάλλετε σε υβριδισμό για 15 λεπτά τουλάχιστον αλλά όχι περισσότερο από 20 λεπτά. Επώαστε τα Σωληνάρια με το Αντιδραστήριο Ανιχνευτή κατά το βήμα ΕΠΙΛΟΓΗΣ για 5 λεπτά τουλάχιστον αλλά όχι περισσότερο από 6 λεπτά.

Δ. ΥΔΑΤΟΛΟΥΤΡΟ: Το επίπεδο του ύδατος στο υδατόλουτρο θα πρέπει να διατηρείται σε τέτοιο ύψος ώστε να διασφαλίζεται ότι βυθίζεται όλη η ποσότητα του υγρού αντιδραστηρίου που βρίσκεται στα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή.

Ε. ΑΝΑΚΙΝΗΣΗ ΜΕ VORTEX: Είναι κρίσιμης σημασίας να υπάρχει ομοιογενές μείγμα κατά τη διάρκεια του βήματος ΕΠΙΛΟΓΗΣ, ειδικά μετά την προσθήκη του Αντιδραστηρίου 3.

ΣΤ. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

1. Οι αυξημένες αρνητικές τιμές ελέγχου (*S. epidermidis* ATCC #14990) άνω των 20,000 RLU (Σχετικές Μονάδες Φωτός) στο Leader ή 600 PLU (Φωτομετρικές Μονάδες Φωτός) στο AccuLDR (πρώην PAL) μπορεί να προκύψουν από ανεπαρκή ανάμειξη μετά την προσθήκη του Αντιδραστηρίου 3 (Αντιδραστήριο Επιλογής) ή από την εξέταση ανάμικτων καλλιεργειών. Επειδή μπορεί να προκύψουν ανάμικτες καλλιέργειες, ένα μέρος της ανάπτυξης μπορεί να εμβολιαστεί σε κατάλληλο υλικό άγαρ και να επωαστεί ώστε να ελεγχθεί για πολλαπλά είδη αποικιών.

2. Οι μειωμένες θετικές τιμές ελέγχου (*S. aureus* ATCC #12600) κάτω των 50,000 RLU ή 1,500 PLU στο AccuLDR (πρώην PAL) μπορεί να προκύψουν από ανεπαρκή αριθμό κυττάρων ή εξέταση ανάμικτων ή παλαιών καλλιεργειών. Επειδή μπορεί να προκύψουν ανάμικτες καλλιέργειες, ένα μέρος της ανάπτυξης μπορεί να εμβολιαστεί σε κατάλληλο υλικό άγαρ και να επωαστεί ώστε να ελεγχθεί για πολλαπλά είδη αποικιών.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Α. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα αποτελέσματα της ΕΞΕΤΑΣΗΣ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ βασίζονται στις ακόλουθες τιμές cut-off. Τα δείγματα που παράγουν σήματα μεγαλύτερα ή ίσα με αυτές τις τιμές cut-off θεωρούνται θετικά. Σήματα μικρότερα από αυτές τις τιμές cut-off θεωρούνται αρνητικά. Τα αποτελέσματα σε εύρος επανάληψης θα πρέπει να επαναλαμβάνονται.

	AccuLDR (πρώην PAL)	Leader
Τιμή Cut-off	1,500 PLU	50,000 RLU
Εύρος επανάληψης	1,200-1,499 PLU	40,000-49,999 RLU

Β. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΧΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ο αρνητικός έλεγχος (π.χ., *S. epidermidis*, ATCC #14990) και ο θετικός έλεγχος (π.χ., *S. aureus*, ATCC #12600) θα πρέπει να ικανοποιούν τις ακόλουθες τιμές:

	AccuLDR (πρώην PAL)	Leader
Αρνητικός έλεγχος	< 600 PLU	< 20,000 RLU
Θετικός έλεγχος	> 1,500 PLU	> 50,000 RLU

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η μέθοδος αυτή έχει εξεταστεί χρησιμοποιώντας πρόσφατη ανάπτυξη από στερεά υλικά και ζυμό που αναφέρονται στο Τμήμα ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ. Η αποτελεσματικότητα αυτής της εξέτασης δεν έχει αποδειχθεί σε απευθείας κλινικά δείγματα.

Τα αποτελέσματα από την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με άλλα εργαστηριακά και κλινικά δεδομένα που έχει στη διάθεσή του ο κλινικός γιατρός.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ συγκρίθηκε με τυπικές βιοχημικές μεθόδους ταυτοποίησης από καλλιέργεια σε δύο τόπους χρησιμοποιώντας συνολικά 641 κλινικά απομονωμένα στελέχη. Από αυτά, 309 ήταν απομονωμένα στελέχη *S. aureus*, 40 από τα 309 απομονωμένα στελέχη *S. aureus* ήταν γνωστά ανθεκτικά στη Μεθυκιλλίνη στελέχη, 156 ήταν απομονωμένα στελέχη που αντιπροσωπεύουν 12 είδη *Staphylococcus*, 176 ήταν άλλα μικροβιακά απομονωμένα στελέχη που αντιπροσωπεύουν 25 γένη.

Αξιολογήθηκαν πέντε στελέχη *Staphylococcus hyicus* και *Staphylococcus intermedius* θετικά στην κοαγουλάση. Κανένα από αυτά τα απομονωμένα στελέχη δεν παρήγαγε θετική αντίδραση με την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ.

Οι τυπικές μέθοδοι ταυτοποίησης περιελάμβαναν μορφολογία χρώσης Gram, μορφολογία αποικιών, εξέταση κοαγουλάσης πλακιδίου, εξέταση κοαγκουλάσης σωληναρίου και Staphaurex (Wellcome Diagnostics) μόνο στον Τόπο 2. Τα απομονωμένα στελέχη κατηγοριοποιήθηκαν ως θετικά (> 50,000 RLU) ή αρνητικά (< 50,000 RLU). Το εύρος των παρατηρήσεων για αρνητικές καλλιέργειες ήταν 243 έως 32,022 RLU και 138,228 έως 821,826 για θετικές καλλιέργειες. Μια σύγκριση της ΕΞΕΤΑΣΗΣ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ με τυπικές μεθόδους ταυτοποίησης από καλλιέργεια παρουσιάζεται παρακάτω.

ACCUPROBE / ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

AccuProbe ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ	ΘΕΤ. ΘΕΤ.	ΘΕΤ. ΑΡΝ.	ΑΡΝ. ΘΕΤ.	ΑΡΝ. ΑΡΝ.	ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ/ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΣΥΜΦΩΝΙΑΣ
ΤΟΠΟΣ 1	202	0	0	221	100%/100%	100%

ACCUPROBE / ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΓΚΟΛΛΗΣΗΣ LATEX

AccuProbe ΣΥΓΚ. LAT.	ΘΕΤ. ΘΕΤ.	ΘΕΤ. ΑΡΝ.	ΑΡΝ. ΘΕΤ.	ΑΡΝ. ΑΡΝ.	ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ/ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΣΥΜΦΩΝΙΑΣ
ΤΟΠΟΣ 2	107	0	1*	110	99%/100%	99,5%
ΤΟΠΟΣ 2	107	0	0	111	100%/100%	100%

Μετά από ανάλυση ασυμφωνιών

* Ο τόπος 2 χρησιμοποίησε Staphaurex (Wellcome Diagnostics) για την αρχική ταυτοποίηση του *S. aureus*. Ένα φαινομενικά ψευδώς αρνητικό απομονωμένο στέλεχος ταυτοποιήθηκε εκ νέου ως “μη” *S. aureus* χρησιμοποιώντας την εξέταση κοαγκουλάσης σωληναρίου, που έδωσε αρνητικό αποτέλεσμα.

ACCUPROBE / ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

AccuProbe Ταυτ. Αναφ.	Θετ. Θετ.	Θετ. Αρν.	Αρν. Θετ.	Αρν. Αρν.	Ευαισθησία/ Ειδικότητα	Ποσοστό Συμφωνίας
Σύνολο (Τόπου 1& Τόπου 2)	309	0	0	332	100%/100%	100%

Αυτή είναι η ολική ευαισθησία, ειδικότητα και ποσοστό συμφωνίας από τον Τόπο 1 και τον Τόπο 2 μετά από εκ νέου ταυτοποίηση ενός απομονωμένου στελέχους από καλλιέργεια, χρησιμοποιώντας την εξέταση κοαγκουλάσης σωληναρίου.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ**A. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΕΝΤΟΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ**

Η ακρίβεια εντός της σειράς της ΕΞΕΤΑΣΗΣ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ υπολογίστηκε αναλύοντας δύο συγκεντρώσεις ριβοσωμικού RNA του *S. aureus* χρησιμοποιώντας 10 αντίγραφα σε μια μόνο ανάλυση.

Δείγμα	A	B
Αριθμός Αντιγράφων	10	10
Μέση Απόκριση	103,813	71,408
Τυπική Απόκλιση	4,562	2,703
Συντελεστής Διακύμανσης	4,4%	3,8%

B. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΣΕΙΡΩΝ

Η ακρίβεια μεταξύ των σειρών υπολογίστηκε αναλύοντας τις δύο ίδιες συγκεντρώσεις του ριβοσωμικού RNA του *S. aureus* χρησιμοποιώντας απλούς προσδιορισμούς σε 12 συνεχόμενες σειρές.

Δείγμα	A	B
Αριθμός Αντιγράφων	12	12
Μέση Απόκριση	101,064	70,622
Τυπική Απόκλιση	7,041	4,979
Συντελεστής Διακύμανσης	7,0%	7,1%

Γ. ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Αξιολογήθηκαν συνολικά 88 ATCC απομονωμένα στελέχη από καλλιέργεια χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. Αυτά τα απομονωμένα στελέχη αντιπροσώπευαν συνολικά 72 είδη από 50 γένη. Δεκατρία απομονωμένα στελέχη *S. aureus*, 12 απομονωμένα στελέχη 8 άλλων ειδών *Staphylococcus* και 63 απομονωμένα στελέχη από 49 άλλα γένη που αποτελούσαν αντιπροσωπευτικούς φυλογενετικά διασταυρούμενους οργανισμούς αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. Όλα τα απομονωμένα στελέχη *S. aureus* που εξετάστηκαν έδωσαν θετικά αποτελέσματα χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. Άλλα είδη *Staphylococcus* και τα αντιπροσωπευτικά φυλογενετικά διασταυρούμενα είδη δεν αντέδρασαν χρησιμοποιώντας αυτή την εξέταση.

Δ. ΑΝΑΚΤΗΣΗ

Πέντε διαδοχικές αραιώσεις κυττάρων *S. aureus* που κυμαίνονται από 0 έως 10 εκατομμύρια κύτταρα ανά ανάλυση εξετάστηκαν παρουσία 30 εκατομμυρίων κυττάρων από τα ακόλουθα μη στοχευόμενα είδη: *Staphylococcus epidermidis* και *Staphylococcus saprophyticus*. Η παρουσία αυτών των μη στοχευόμενων ειδών δεν παρεμβλήθηκε με το θετικό σήμα των κυτταρικών αραιώσεων του *S. aureus*, ούτε δημιούργησαν θετική αντίδραση με την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Centers for Disease Control**, 1988. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. **37**: 377-382; 387- 388.
2. **Jorgenson, J. H., and W. E. Kloos** 1987. *Staphylococcal* infections In B. B. Wentworth (ed.) Diagnostic Procedures for Bacterial Infections; 7th ed. American Public Health Association. Washington D.C.
3. **Kloos, W. E., and K. H. Schleifer**: 1986. *Staphylococcus* p. 1013-1019 in Bergey's manual of systematic bacteriology.
4. **Kloos, W. E., and K. H. Schleifer**. 1975. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. J. Clin. Microbiology **1**: 82-88.
5. **Kohne, D. E., Steigerwalt, A. G. , and D. J. Brenner**, 1984. Nucleic acid probe specific for members of the genus *Legionella*, in *Legionella*: proceedings of the 2nd International Symposium, ed. C. Thornsberry, et al, American Society for Microbiology. Washington, D.C. pp 107-108.
7. **Morse, S. I.** 1981. *Staphylococci* In A. Braude ed. Medical Microbiology and Infectious Diseases W.B. Saunders Company; Philadelphia, PA.

 
Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 (USA)




Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Το παρόν προϊόν ενδέχεται να καλύπτεται από ένα ή περισσότερα διπλώματα ευρεσιτεχνίας στις Η.Π.Α. τα οποία μπορείτε να βρείτε στη διεύθυνση www.hologic.com/patents.

102944F-01-EL Rev. 003 2018-03
©1990 - 2018 Hologic, Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.