

**HOLOGIC®**

**AccuProbe®**

**MYCOBACTERIUM GORDONAE CULTURE IDENTIFICATION TEST  
(ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΥCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ)  
(bioMérieux ref. 39005 / Hologic Cat. No. 102850)**

**MYCOBACTERIUM GORDONAE CULTURE IDENTIFICATION TEST  
(ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ)  
ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΑ ΓΙΑ ΔΙΑΘΕΣΗ ΣΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ  
(bioMérieux ref. 39005 / Hologic Cat. No. 102850)**

**ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ**

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ είναι μια ταχεία εξέταση με ανιχνευτή DNA (DNA probe) η οποία χρησιμοποιεί την τεχνική υβριδισμού νουκλεϊνικού οξέως για την ταυτοποίηση του *Mycobacterium gordonae* που απομονώνεται από καλλιέργεια.

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ**

Το *Mycobacterium gordonae* (*M. gordonae*), ένα μη παθογόνο σκοτοχρωμογόνο βακτήριο, είναι το τρίτο συνηθέστερα απομονωμένο είδος *Mycobacterium* στις Ηνωμένες Πολιτείες (2). Τα σκοτοχρωμογόνα Μυκοβακτήρια αποτελούν περίπου το 19% των κλινικά απομονωμένων στελεχών που αναφέρθηκαν στα Κέντρα Ελέγχου Λοιμώξεων το 1980. Τα *M. scrofulaceum*, *M. szulgai*, *M. xenopi*, *M. gordonae*, και *M. flavescens* κατηγοριοποιήθηκαν όλα ως σκοτοχρωμογόνα (5). Από αυτά, τα *M. scrofulaceum* και *M. xenopi* ευθύνονται για νοσήματα στον άνθρωπο. Το *M. xenopi* διαχωρίζεται εύκολα από το *M. gordonae* βάσει τυπικών βιοχημικών εξετάσεων, ωστόσο, είναι δύσκολο να διαχωριστεί το *M. scrofulaceum* από το *M. gordonae*. Το *M. gordonae* αποτελεί περίπου το 79% των απομονωμένων στελεχών σκοτοχρωμογόνων Μυκοβακτηρίων ενώ το 11% αυτών ταυτοποιούνται ως *M. scrofulaceum*.

Οι κλασσικές μέθοδοι ταυτοποίησης μυκοβακτηρίων στηρίζονται στη χρώση δειγμάτων για οξεάντοχους βάκιλους και κατόπιν στην καλλιέργεια και τη βιοχημική εξέταση. Μπορεί να χρειαστεί μέχρι και δύο μήνες για να κατηγοριοποιηθεί σε είδος ένα απομονωμένο στέλεχος χρησιμοποιώντας αυτές τις τυπικές τεχνικές (3).

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ταυτοποιεί το *M. gordonae* που απομονώνεται από καλλιέργεια σε λιγότερο από μια ώρα.

**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 (4). 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](http://www.hologic.com/sds).

Τα αντιδραστήρια για την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ διατίθενται σε τρεις διαφορετικές συσκευασίες:

**ACCUPROBE MYCOBACTERIUM GORDONAE PROBE KIT  
(ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ACCUPROBE ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ MYCOBACTERIUM GORDONAE)**

**Αντιδραστήριο Ανιχνευτή (Probe Reagent) (P)** (4 x 5 σωληνάρια)  
*Mycobacterium gordonae*.

**Σωληνάρια Λύσης (Lysing Tubes) (LT)**  
Γυάλινα σφαιρίδια και ρυθμιστικό διάλυμα.

(1 x 20 σωληνάρια)

**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 *M. gordonae* που έχει απομονωθεί από καλλιέργεια.
- Δ Χρησιμοποιείτε αποκλειστικά τα παρεχόμενα ή ειδικά αναλώσιμα εργαστηριακά είδη.
- E Ο χειρισμός των καλλιεργειών και όλων των διαδικαστικών βημάτων μέχρι το βήμα αδρανοποίησης δια της θερμότητας θα πρέπει να εκτελούνται σε Θάλαμο Βιολογικής Ασφάλειας Τάξης II.
- ΣΤ 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.
- Z Αποφεύγετε την επαφή των Αντιδραστηρίων Ανίχνευσης (Detection Reagent) I και II με το δέρμα, τα μάτια, και το βλεννογόνο. **ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: ΔΙΑΒΡΩΤΙΚΟ ΠΡΟΪΟΝ.** Εάν προκύψει επαφή 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° - 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 ξανασφραγίζεται και τα σωληνάρια θα πρέπει να χρησιμοποιούνται εντός δύο μηνών και πριν από την ημερομηνία λήξης.

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

**ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ ΤΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.**

## ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ είναι σχεδιασμένη για την ταυτοποίηση του *M.gordonae* που έχει απομονωθεί από καλλιέργεια.

- A. **Μέθοδος Στερεών Υλικών.** Μπορεί να εξεταστεί η ανάπτυξη από κατάλληλα στερεά υλικά, όπως από κεκλιμένα Lowenstein-Jensen ή τρυβλία Middlebrook 7H10 ή 7H11, με πιθανή ύπαρξη *M. gordonae*. Τα δείγματα μπορούν να εξεταστούν μόλις είναι ορατή η ανάπτυξη και κατά τη διάρκεια των επόμενων εξήντα ημερών επώασης.
1. Η ανάπτυξη μπορεί να αφαιρεθεί με ένα 1 μL πλαστικό κρίκο μιας χρήσης, συρμάτινο κρίκο ή πλαστική βελόνα μιας χρήσης. Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται στυλεοί λόγω της μικρής ποσότητας υγρού στο οποίο κατόπιν επαναιωρούνται τα κύτταρα.
  2. Αποφεύγετε να λαμβάνετε μέρος του στερεού υλικού μαζί με τα κύτταρα.
  3. 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.** Με την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ μπορεί να εξεταστεί ανάπτυξη σε ζυμό Middlebrook 7H9 με θολερότητα ισοδύναμη ή μεγαλύτερη συγκρινόμενη με την Πρότυπη Θολοσιμετρική κλίμακα McFarland 1. Εισάγετε ένα δείγμα 100 μL από το καλά αναμεμιγμένο εναιώρημα ζυμού στα Σωληνάρια Αντιδραστήριου Λύσης, όπως περιγράφεται παρακάτω.

## ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

(bioMérieux ref. 39005 / Hologic Cat. No. 102850)

Αντιδραστήριο Ανιχνευτή (Probe Reagent) (P)  
Σωληνάρια Λύσης (Lysing Tubes) (LT)

**20 Εξετάσεις**  
4 x 5 σωληνάρια  
1 x 20 σωληνάρια

## ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

1 μL στείροι πλαστικοί κρίκοι ενοφθαλμισμού, συρμάτινοι κρίκοι, ή πλαστικές βελόνες για επιλογή αποικιών

Έλεγχος Στελεχών καλλιέργειας

Υδατόλουτρο ή θερμαντική πλάκα\* (60° ± 1°C)

Υδατόλουτρο ή θερμαντική πλάκα\* (95° ± 5°C)

Μικροδιανεμητές (Micropipettes) (100 μL, 300 μL)

Σύστημα επαναληπτικής αναρρόφησης (Re-pipettor) (100 μL, 300 μL)

Αναδευτήρας τύπου Vortex

McFarland 1 Πρότυπο Θλοσίμετρο

\*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)

Hologic Sonicator (Συσκευή Υπερήχων)

(bioMérieux ref. 39409 / Hologic Cat. No. 901104)

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT

(ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ)

(bioMérieux ref. 39305 / Hologic Cat. No. 102800)

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT  
(ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ HOLOGIC) (1200 εξετάσεις)  
(bioMérieux ref. 39300 / Hologic Cat. No. 201791)  
Θερμαντική πλάκα (60° ± 1°C)  
(bioMérieux ref. 39406)  
Θερμαντική πλάκα (95° ± 1°C)  
(bioMérieux ref. 39407)  
Διπλή Θερμαντική πλάκα (60°/95° ± 1°C)  
(bioMérieux ref. 39408)  
Hologic Sonicator Rack (Στατώ συσκευής Υπερήχων)  
(bioMérieux ref. 39313 / Hologic Cat. No. 104027)

## ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

### A. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΥ

1. Για τη βέλτιστη μεταφορά των ηχητικών κυμάτων ενέργειας, το νερό πρέπει να εξαιρωθεί προσεκτικά σύμφωνα με την ακόλουθη διαδικασία:
  - α. Προσθέστε αρκετό ζεστό νερό για να γεμίσετε τη συσκευή υπερήχων μέχρι 1/2 ίντσα από το επάνω μέρος της δεξαμενής νερού.
  - β. Λειτουργήστε τη συσκευή υπερήχων για 15 λεπτά ώστε να εξαιρωθεί καλά το νερό.
2. Ρυθμίστε μια θερμαντική πλάκα ή υδατόλουτρο στους 60° ± 1°C και μια άλλη θερμαντική πλάκα ή υδατόλουτρο στους 95° ± 5°C.
3. Προετοιμάστε τον αναλυτή χημειοφωταύγειας Hologic 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 *M. gordonae* (π.χ., American Type Culture Collection, ATCC #14470) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θετικός έλεγχος ενώ η καλλιέργεια *M. scrofulaceum* (π.χ., ATCC #19981) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αρνητικός έλεγχος.

### Γ. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

1. Επισημάνετε επαρκή αριθμό Σωληναρίων Αντιδραστηρίου Λύσης για να εξετάσετε τα απομονωμένα στελέχη από καλλιέργεια ή/και τους ελέγχους. Αφαιρέστε και κρατήστε τα πώματα.
2. Εισάγετε 100 μL του Αντιδραστηρίου 1 (Αντιδραστήριο Λύσης) και 100 μL του Αντιδραστηρίου 2 (Ρυθμιστικό διάλυμα Υβριδισμού) σε όλα τα Σωληνάρια Αντιδραστηρίου Λύσης. **Εάν πρόκειται να εξεταστούν καλλιέργειες ζωμού, μην προσθέτετε Αντιδραστήριο 1 στα Σωληνάρια Αντιδραστηρίου Λύσης.**
3. Μεταφέρετε το δείγμα από στερεό υλικό ή 100 μL μιας καλά αναμεμιγμένης καλλιέργειας ζωμού στα επισημασμένα Σωληνάρια Αντιδραστηρίου Λύσης, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ. Περιστρέψτε τον κρίκο ή τη βελόνα στο μείγμα Αντιδραστηρίου 1 και Αντιδραστηρίου 2 για να αφαιρέσετε τα κύτταρα, εάν εξετάζεται ανάπτυξη σε στερεά υλικά.
4. Καλύψτε ξανά τα Σωληνάρια Αντιδραστηρίου Λύσης και ανακινήστε με Vortex για λίγο.

### Δ. ΛΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

1. Πιέστε τα Σωληνάρια Αντιδραστηρίου Λύσης μέσα στο στατώ της συσκευής υπερήχων Sonicator έτσι ώστε το μείγμα **αντίδρασης** που βρίσκεται στον πυθμένα του σωληναρίου να είναι βυθισμένο αλλά τα πώματα να βρίσκονται επάνω από την επιφάνεια του ύδατος. Τοποθετήστε το στατώ του Sonicator στο υδατόλουτρο υπερήχων. ΜΗΝ ΑΦΗΝΕΤΕ ΤΑ ΣΩΛΗΝΑΡΙΑ ΝΑ ΑΓΓΙΖΟΥΝ ΤΟΝ ΠΥΘΜΕΝΟ Ή ΤΑ ΤΟΙΧΩΜΑΤΑ ΤΟΥ SONICATOR.
2. Υποβάλλετε σε κατεργασία υπερήχων για 15 λεπτά.

3. Τοποθετήστε τα Σωληνάρια Αντιδραστήριου Λύσης, που περιέχουν τους οργανισμούς που υποβλήθηκαν σε κατεργασία υπερήχων, με μια θερμαντική πλάκα ή υδατόλουτρο για 10 λεπτά στους  $95^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ .
4. Αφαιρέστε προσεκτικά τα Σωληνάρια Αντιδραστήριου Λύσης από τη θερμαντική πλάκα ή το υδατόλουτρο.

#### Ε. ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ

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 100  $\mu\text{L}$  των δειγμάτων που έχουν υποστεί λύση από τα Σωληνάρια Αντιδραστήριου Λύσης στα αντίστοιχα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή.
4. Καλύψτε ξανά τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή και επωάστε για 15 λεπτά στους  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  σε υδατόλουτρο ή θερμαντική πλάκα.

#### ΣΤ. ΕΠΙΛΟΓΗ

1. Αφαιρέστε τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή από το υδατόλουτρο ή τη θερμαντική πλάκα. Αφαιρέστε και κρατήστε τα πώματα. Εισάγετε 300  $\mu\text{L}$  του Αντιδραστήριου 3 (Αντιδραστήριο Επιλογής) σε κάθε σωληνάριο. Καλύψτε ξανά τα σωληνάρια και ανακινήστε με Vortex για να αναμειχθούν εντελώς.
2. Επωάστε τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή για 5 λεπτά στους  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  σε υδατόλουτρο ή θερμαντική πλάκα.
3. Αφαιρέστε τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή από το υδατόλουτρο ή τη θερμαντική 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 θερμαντική πλάκα.**

#### Ζ. 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  $35^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$  διαλύει το ίζημα.
- B. ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ: Οι αντιδράσεις Υβριδισμού και Επιλογής εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Επομένως, είναι απαραίτητο να διατηρείται το υδατόλουτρο ή η θερμαντική πλάκα εντός του οριζόμενου εύρους θερμοκρασίας.
- Γ. ΧΡΟΝΟΣ: Οι αντιδράσεις Υβριδισμού και Επιλογής εξαρτώνται από το χρόνο. Υποβάλλετε σε υβριδισμό για 15 λεπτά τουλάχιστον αλλά όχι περισσότερο από 20 λεπτά. Επωάστε 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 νερού στο υδατόλουτρο θα πρέπει να διατηρείται ώστε να διασφαλίζεται ότι τα Σωληνάρια Αντιδραστήριου Λύσης είναι βυθισμένα σε αυτό, αλλά όχι επάνω από το επίπεδο του δακτυλίου σφράγισης. Θα πρέπει επίσης να διασφαλίζεται ότι είναι βυθισμένο το σύνολο του όγκου του υγρού αντίδρασης στα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή.
- Ε. ΑΝΑΚΙΝΗΣΗ ΜΕ VORTEX: Είναι κρίσιμης σημασίας να υπάρχει ομοιογενές μείγμα κατά τη διάρκεια των βημάτων ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ και ΕΠΙΛΟΓΗΣ, ειδικά μετά την προσθήκη των κυττάρων στα Αντιδραστήρια 1 και 2 και μετά την προσθήκη του Αντιδραστήριου 3.
- ΣΤ. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ:

1. Οι αυξημένες αρνητικές τιμές ελέγχου (*M. scrofulaceum* ATCC #19981) άνω των 10.000 RLU (Σχετικές Μονάδες Φωτός) στο Leader ή 300 PLU (Φωτομετρικές Μονάδες Φωτός) στο AccuLDR (πρώην PAL) μπορεί να προκύψουν από ανεπαρκή ανάμειξη μετά την προσθήκη του Αντιδραστήριου 3 (Αντιδραστήριο Επιλογής) ή από την εξέταση ανάμικτων καλλιιεργειών. Επειδή μπορεί να προκύψουν ανάμικτες καλλιιεργειες, 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 (*M. gordonae* ATCC #14470) κάτω των 30.000 RLU στο Leader ή 900 PLU στο AccuLDR (πρώην PAL) μπορεί να προκύψουν από ανεπαρκή αριθμό κυττάρων, ακατάλληλη κατεργασία με υπερήχους ή εξέταση ανάμικτων ή παλαιών καλλιιεργειών. Επειδή μπορεί να προκύψουν ανάμικτες καλλιιεργειες, ένα μέρος της ανάπτυξης μπορεί να εμβολιαστεί σε κατάλληλο υλικό άγαρ και να επωαστεί ώστε να ελεγχθεί για πολλαπλά είδη αποικιών.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### A. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα αποτελέσματα της ΕΞΕΤΑΣΗΣ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE 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.

	<b>AccuLDR</b> (πρώην PAL)	<b>Leader</b>
Τιμή cut-off	900 PLU	30.000 RLU
Εύρος επανάληψης	600-899 PLU	20.000-29.999 RLU

### B. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΧΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ο αρνητικός έλεγχος (π.χ., *M. scrofulaceum*, ATCC #19981) και ο θετικός έλεγχος (π.χ., *M. gordonae*, ATCC #14470) θα πρέπει να ικανοποιούν τις ακόλουθες τιμές:

	<b>AccuLDR</b> (πρώην PAL)	<b>Leader</b>
Αρνητικός έλεγχος	< 300 PLU	< 10.000 RLU
Θετικός έλεγχος	> 900 PLU	> 30.000 RLU

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η μέθοδος αυτή έχει εξεταστεί χρησιμοποιώντας πρόσφατη ανάπτυξη από στερεά υλικά και καλλιιεργειες ζυμού που αναφέρονται στο Τμήμα ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ. Η αποτελεσματικότητα αυτής της εξέτασης δεν έχει αποδειχθεί σε απευθείας κλινικά δείγματα (π.χ. ούρα, κόπρανα ή αναπνευστικά δείγματα).

Τα αποτελέσματα από την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE 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 MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ συγκρίθηκε με τυπικές μεθόδους βιοχημικής ταυτοποίησης καλλιέργειας σε τέσσερις τύπους χρησιμοποιώντας 255 απομονωμένα στελέχη του *M. gordonae* και 308 απομονωμένα στελέχη 25 άλλων ειδών *Mycobacterium*. Η τυπική ταυτοποίηση από καλλιέργεια εξαρτάται από το ρυθμό ανάπτυξης, τη μορφολογία των αποικιών, τη μικροσκοπική εξέταση και μια σειρά βιοχημικών αντιδράσεων. Τα απομονωμένα στελέχη κατηγοριοποιήθηκαν ως θετικά ( $\geq 30.000$  RLU) ή αρνητικά ( $< 30.000$  RLU). Το εύρος των παρατηρήσεων για αρνητικές καλλιέργειες ήταν 138 έως 21.710 RLU και 34.667 έως 1.129.249 RLU για θετικές καλλιέργειες. Μια σύγκριση αυτών των αποτελεσμάτων με τις τυπικές μεθόδους ταυτοποίησης από καλλιέργεια παρουσιάζεται παρακάτω.

#### ACCUPROBE / ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

AccuProbe Καλλιέργεια	Θετ. Θετ.	Θετ. Αρν.	Αρν. Θετ.	Αρν. Αρν.	Ευαισθησία/ Ειδικότητα	Ποσοστό Συμφωνίας
Τόπος 1	86	0	1	69	98,9%/100%	99,4%
Τόπος 2	15	0	1	97	93,8%/100%	99,1%
Τόπος 3	101	1	1	98	99,0%/99,0%	99,0%
Τόπος 4	50	0	0	46	100%/100%	100%
<b>Σύνολο</b>	<b>252</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>310</b>	<b>98,8%/99,7%</b>	<b>99,3%</b>

Ένα από τα 7 απομονωμένα στελέχη *Mycobacterium asiaticum* που εξετάστηκε έδωσε ψευδώς θετικό αποτέλεσμα. Το απομονωμένο αυτό στέλεχος ήταν αρνητικό μετά από επανάληψη της εξέτασης με την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ.

Τρία από τα 255 απομονωμένα στελέχη *M. gordonae* που εξετάστηκαν έδωσαν αρνητικό αποτέλεσμα χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ.

### ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

#### A. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΕΝΤΟΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ

Η ακρίβεια εντός της σειράς της ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ υπολογίστηκε αναλύοντας δύο συγκεντρώσεις ριβοσωμικού RNA που απομονώθηκε από *M. gordonae* χρησιμοποιώντας 10 αντίγραφα σε μια μόνο ανάλυση.

Δείγμα	A	B
Αριθμός Αντιγράφων	10	10
Μέση Απόκριση	51.870	97.429
Τυπική Απόκλιση	6.313	17.742
Συντελεστής Διακύμανσης	12,2%	18,2%

#### B. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΣΕΙΡΩΝ

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

Δείγμα	A	B
Αριθμός Αντιγράφων	12	12
Μέση Απόκριση	44.538	86.856
Τυπική Απόκλιση	4.669	9.900
Συντελεστής Διακύμανσης	10,5%	11,4%



#### Γ. ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Αξιολογήθηκαν συνολικά 122 ATCC απομονωμένα στελέχη από καλλιέργεια χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. Αυτά τα απομονωμένα στελέχη αντιπροσώπευαν συνολικά 99 είδη από 42 γένη. Οκτώ απομονωμένα στελέχη *M. gordonae*, 49 απομονωμένα στελέχη 27 άλλων ειδών *Mycobacterium* και 65 απομονωμένα στελέχη από 41 άλλα γένη που αποτελούσαν αντιπροσωπευτικό φυλογενετικά διασταυρούμενους οργανισμούς αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. Όλα τα απομονωμένα στελέχη του *M. gordonae* που εξετάστηκαν σε αυτή τη μελέτη έδωσαν ένα θετικό αποτέλεσμα χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. Άλλα είδη *Mycobacterium* και αντιπροσωπευτικά φυλογενετικά διασταυρούμενα είδη δεν αντέδρασαν χρησιμοποιώντας αυτή την εξέταση.

#### Δ. ΑΝΑΚΤΗΣΗ

Το ριβοσωμικό RNA *Mycobacterium gordonae* σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από  $5 \times 10^{-4}$  mg και  $1 \times 10^{-1}$  mg ανά εξέταση αναλύθηκε παρουσία 30 εκατομμυρίων κυττάρων είτε *M. scrofulaceum*, *M. marinum* ή *Nocardia asteroides*. Δεν παρατηρήθηκε παρεμβολή του σήματος για *M. gordonae* και οι άλλοι οργανισμοί που ήταν παρόντες δεν αντέδρασαν χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ MYCOBACTERIUM GORDONAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ.



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



**Hologic N.V.**  
Da Vinciiaan 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](http://www.hologic.com/patents).

102898F-01-EL Rev. 003 2018-03  
©2003 - 2018 Hologic, Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.