

LISTERIA MONOCYTOGENES CULTURE IDENTIFICATION TEST
(ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ)

(bioMérieux ref. 39500 / Hologic Cat. No. 102920)

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ είναι μια ταχεία εξέταση με ανιχνευτή DNA (DNA probe) η οποία χρησιμοποιεί την τεχνική υβριδισμού νουκλεϊνικού οξέος για την ταυτοποίηση του *Listeria monocytogenes* που απομονώνεται από καλλιέργεια.

Προτείνεται επίσης μια μέθοδος ανίχνευσης, η οποία έχει πιστοποιηθεί από την πιστοποίηση AFNOR με τον αριθμό αναφοράς BIO 12/4-02/95 (ανατρέξτε στην ενότητα σχετικά με τον ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΕΛΕΓΧΟ, παράγραφος Γ).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Ο *Listeria monocytogenes* είναι ένας μικροοργανισμός, η μετάδοση του οποίου γίνεται κυρίως μέσω του εδάφους και ο οποίος διασκορπίζεται σε ολόκληρο το περιβάλλον. Έχει ανιχνευθεί σε πηγές, όπως είναι το νερό, τα αγροτικά προϊόντα και τα ζώα.

Αναγνωρισμένος ως ανθρώπινο παθογόνο για περισσότερα από 50 χρόνια, ο *Listeria monocytogenes* έχει ταυτοποιηθεί ως ο αιτιολογικός παράγοντας της λιστερίωσης, προκαλώντας μηνιγγίτιδα, εγκεφαλίτιδα, σηψαιμία, ενδοκαρδίτιδα, αποβολή, αποστήματα και τοπικές πυώδεις βλάβες σε ανθρώπους (2,4). Αρκετές μεγάλες εξάρσεις λιστερίωσης την τελευταία δεκαετία έχουν συνδεθεί με την κατανάλωση μολυσμένης τροφής.

Έγκυες, νεογνά, ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς και γηραιότερα άτομα διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να νοσήσουν από λιστερίωση (5).

Οι τρέχουσες μέθοδοι ταυτοποίησης βασίζονται σε παραδοσιακές φυσιολογικές και βιοχημικές μεθόδους. Αυτές περιλαμβάνουν τη χρώση Gram, τη μορφολογία, την καταλάση, την κινητικότητα, τη β-αιμόλυση σε αιματούχο άγαρ και τη σακχαρώδη ζύμωση (8).

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE LISTERIA MONOCYTOGENES είναι μια ταχεία και αντικειμενική μέθοδος ανίχνευσης του *Listeria monocytogenes*, η οποία ανιχνεύει συγκεκριμένες αλληλουχίες ριβοσωμικού RNA μέσα σε διάστημα 35 λεπτών από την προετοιμασία του δείγματος.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

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 (6). Η μέθοδος 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 στόχου, 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 μη υβριδοποιημένων και υβριδοποιημένων δειγμάτων. Το σήμα φωτός που εκπέμπεται

από τα υβρίδια DNA:RNA μετρίεται από έναν 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 LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ διατίθενται σε τρεις διαφορετικές συσκευασίες:

ACCUPROBE LISTERIA MONOCYTOGENES KIT (Συσκευασία ACCUPROBE LISTERIA MONOCYTOGENES)

(bioMérieux ref. 39500 / Hologic Cat. No. 102920)

Αντιδραστήριο Ανιχνευτή (Probe Reagent) (P)

(4 x 5 σωληνάρια)

Listeria monocytogenes.

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT

(ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ)

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

Αντιδραστήριο 1 (Αντιδραστήριο Λύσης) (Lysis 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)

(bioMérieux ref. 39300 / Hologic Cat. No. 201791)

Αντιδραστήριο Ανίχνευσης I (Detection Reagent) (RI)

1 x 240 mL

0,1% υπεροξειδίο υδρογόνου σε 0,001 N νιτρικό οξύ.

Αντιδραστήριο Ανίχνευσης II (Detection Reagent) (RII)

1 x 240 mL

1 N υδροξειδίο του νατρίου.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Αποκλειστικά για *in vitro* διαγνωστική χρήση ή για χρήση στη βιομηχανική μικροβιολογία.
- Κατά την εκτέλεση αυτής της ανάλυσης, τηρείτε τις συνήθεις προφυλάξεις ασφάλειας (3).
- Η συγκεκριμένη εξέταση πρέπει να χρησιμοποιείται αποκλειστικά για την ταυτοποίηση του *Listeria monocytogenes* που έχει απομονωθεί από καλλιέργεια.
- Χρησιμοποιείτε αποκλειστικά τα παρεχόμενα ή ειδικά αναλώσιμα εργαστηριακά είδη.
- Ορισμένα από τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται σε αυτή την εξέταση 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.

- F. Αποφεύγετε την επαφή των Αντιδραστηρίων Ανίχνευσης (Detection Reagent) I και II με το δέρμα, τα μάτια και τους βλεννογόνους. Εάν προκύψει επαφή αυτών των αντιδραστηρίων με το δέρμα ξεπλύνετε με νερό. Εάν συμβεί απόχυση αυτών των αντιδραστηρίων, αραιώστε με νερό πριν σκουπίσετε.
- G. Για τη διασφάλιση της βέλτιστης απόδοσης, συνιστάται πριν από την εξέταση η επιθεώρηση των σωληναρίων για τυχόν υλικά που έχουν αποκολληθεί. Αν εντοπίσετε αποκολλημένα υλικά, χτυπήστε το σωληνάριο στην επιφάνεια του πάγκου, για να κατακαθίσουν τα περιεχόμενα στον πυθμένα του σωληναρίου.
- H. Συμμορφωθείτε με τις Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές (π.χ. πρότυπο ISO 7218) (12).

ΦΥΛΑΞΗ

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

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

ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ ΤΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ είναι σχεδιασμένη για την ταυτοποίηση του *Listeria monocytogenes* που έχει απομονωθεί από καλλιέργεια. Η ανίχνευση του *L. monocytogenes* σε προϊόντα τροφίμων εκτελείται μετά από ένα βήμα προ-εμπλουτισμού.

ΚΛΙΝΙΚΗ IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ

A. Μέθοδος Στερεών Υλικών. Μπορεί να πραγματοποιηθεί εξέταση ανάπτυξης απομονωμένης από τα κατάλληλα στερεά υλικά, όπως αίμα προβάτου 5%, έγχυμα εγκεφάλου-καρδιάς ή σοκολατούχο άγαρ. Επιπλέον, αποδεκτή είναι επίσης ανάπτυξη από εκλεκτικά υλικά όπως Άγαρ McBride και Άγαρ LPM (Remel). Τα δείγματα μπορούν να εξεταστούν μόλις γίνει ορατή η ανάπτυξη, ωστόσο όχι νωρίτερα από διάστημα 72 ωρών.

1. Η ανάπτυξη μπορεί να αφαιρεθεί με έναν πλαστικό κρίκο μίας χρήσης 1 mL, συμπίεση κρίκο, πλαστική βελόνα μίας χρήσης ή μια ράβδο επιχρίσεως. Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται στυλεοί λόγω της μικρής ποσότητας υγρού στο οποίο κατόπιν επαναιωρούνται τα κύτταρα.
2. Αν πρόκειται να εξεταστεί μόνο μία αποικία, θα πρέπει να έχει διάμετρο τουλάχιστον 1 mm. Μπορεί να πραγματοποιηθεί εξέταση κυττάρων ενός κρίκου 1 mL ή αρκετών (3 ή 4) μικρότερων αποικιών.
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 Ζωμού. Η ανάπτυξη σε ζωμούς, όπως είναι ο ζωμός σόγιας θρυπτικής, ο ζωμός από έγχυμα εγκεφάλου-καρδιάς ή ο ζωμός εμπλουτισμού *Listeria* με θολερότητα ισοδύναμη ή μεγαλύτερη συγκρινόμενη με την Πρότυπη Θολοσιμετρική κλίμακα McFarland 1 μπορεί να εξεταστεί με την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. Εισάγετε ένα δείγμα 50 mL από το καλά αναμειγμένο εναιώρημα ζυμού στα σωληνάρια αντιδραστηρίου ανιχνευτή, όπως περιγράφεται παρακάτω.

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Η διαδικασία που περιγράφεται στην παράγραφο Γ της παρούσας ενότητας έχει πιστοποιηθεί από την πιστοποίηση AFNOR, τον Γαλλικό Οργανισμό Τυποποίησης.

A. Μέθοδος στερεών υλικών για ταυτοποίηση ή ανίχνευση. Μπορεί να πραγματοποιηθεί εξέταση ανάπτυξης που έχει απομονωθεί από τα κατάλληλα στερεά υλικά (αίμα προβάτου 5%, άγαρ PALCAM, Oxford, McBride). Τα δείγματα μπορούν να εξεταστούν μόλις γίνουν ορατές οι αποικίες, ωστόσο όχι νωρίτερα από διάστημα 72 ωρών.

1. Η ανάπτυξη μπορεί να αφαιρεθεί με έναν πλαστικό κρίκο 1 mL μίας χρήσης, έναν συρμάτινο κρίκο, μια πιπέτα Pasteur σφραγισμένη ή μια πλαστική βελόνα μίας χρήσης. Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται στυλεοί λόγω της μικρής ποσότητας υγρού στο οποίο κατόπιν επαναιωρούνται τα κύτταρα.
2. Μπορούν να εξεταστούν είτε αρκετές μικρές αποικίες (3 ή 4) είτε μία μόνο αποικία διαμέτρου τουλάχιστον 1 mm (1 αποικία περιέχει 10^{11} - 10^{12} βακτήρια) ή μπορεί να αφαιρεθεί η ανάπτυξη στη θέση ενοφθαλμισμού (κρίκος 1 mL).
3. Αποφεύγετε να λαμβάνετε μέρος του στερεού υλικού μαζί με τα κύτταρα.
4. Αναλόγως της ανάπτυξης, συλλέξτε τις αποικίες που είναι παρούσες ή τις αποικίες στη ζώνη ενοφθαλμισμού.
5. 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. Η εξέταση μπορεί να πραγματοποιηθεί απευθείας σε έναν κατάλληλο ζυμό καλλιέργειας.

Σύμφωνα με τις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε μια ποικιλία υλικών (1, 7), μπορούν να χρησιμοποιηθούν απευθείας μόνο συγκεκριμένοι ζυμοί. Μη εκλεκτικοί ζυμοί, όπως ο ζυμός από έγχυμα εγκεφάλου-καρδιάς, ο ζυμός σόγιας θρυπτικής, ο ζυμός εμπλουτισμού *Listeria*, ο ζυμός Todd-Hewitt, αποδίδουν καλά αποτελέσματα, ενώ ορισμένοι πιο εκλεκτικοί ζυμοί (*L. PALCAMY*, *UVM*, *Fraser*) μειώνουν την ευαισθησία της εξέτασης οδηγώντας σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Η επώαση πρέπει να παρατείνεται για 48 ώρες στους 30°C. **Η χρήση ζυμών Fraser, UVM ή L. PALCAMY απαιτεί ανακαλλιέργεια σε στερεό υλικό.**

Εισάγετε 50 mL από καλά αναμειγμένο ζυμό καλλιέργειας στο σωληνάριο Αντιδραστηρίου Ανιχνευτή, όπως περιγράφεται στην παράγραφο Γ της ενότητας ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ.

Γ. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ AFNOR αριθμός BIO 12/4-02/95 (ισχύει έως 7 Φεβρουαρίου 2011) ΓΙΑ ΟΛΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΓΙΑ ΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ ΚΑΙ ΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΕ ΧΩΡΟΥΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ.

- D0 1. Αναμείξτε X g δείγματος σε 9X mL ζυμού Half Fraser και στη συνέχεια επώαστε επί 18 έως 24 ώρες σε θερμοκρασία $30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
Σημείωση: εντός του πλαισίου εργασιών του σήματος NF επικύρωση δεν εξετάστηκαν δείγματα άνω των 25g.
- D0 + 24 ώρες 2. Μετά την επώαση του ζυμού εμπλουτισμού, ανακαλλιεργήστε σε εκλεκτικό άγαρ (άγαρ Oxford για γαλακτοκομικά προϊόντα ή άγαρ PALCAM για όλα τα προϊόντα τροφίμων για τον άνθρωπο και τα περιβαλλοντικά δείγματα σε χώρους παραγωγής).

Εφαρμόστε το δείγμα σε αραιές γραμμές χρησιμοποιώντας έναν στυλεό. Επωάστε για 18 έως 24 ώρες σε θερμοκρασία $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (εκλεκτικό τρυβλίο Ν°1).

3. Η επώαση του ζωμού Half Fraser παρατείνεται για 18 έως 24 ώρες στους $30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

D0 + 48 ώρες 4. Μετά από επώαση του εκλεκτικού τρυβλίου Ν° 1 επί 18-24 ώρες στους $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, η ανίχνευση του *Listeria monocytogenes* πραγματοποιείται σε τυπικές αποικίες από το εκλεκτικό άγαρ, σύμφωνα με τη μέθοδο Στερεών Υλικών, η οποία περιγράφεται στην παράγραφο Α της παρούσας ενότητας και σύμφωνα με τις διαδικασίες που προσδιορίζονται στην ενότητα ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ. Εάν δεν εμφανιστούν τυπικές αποικίες στο τρυβλίο ή στην περίπτωση αρνητικού αποτελέσματος AccuProbe:

- συνεχίστε την επώαση του εκλεκτικού τρυβλίου Ν° 1 για άλλες 18-24 ώρες στους $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- ενοφθαλμίστε ένα νέο τρυβλίο εκλεκτικού άγαρ (τρυβλίο Ν° 2) χρησιμοποιώντας ζωμό Half Fraser που έχει επωαστεί επί 48 ώρες. Επωάστε το άγαρ για 24 ώρες στους $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

D0 + 72 ώρες 5. Μετά από επώαση του εκλεκτικού τρυβλίου Ν° 1 επί 48 ώρες ή του εκλεκτικού τρυβλίου Ν° 2 επί 24 ώρες, προχωρήστε στην ανίχνευση του *L. monocytogenes* σύμφωνα με το πρωτόκολλο που περιγράφεται στην ενότητα "Μικροβιολογικός έλεγχος", παράγραφος Α. Εάν δεν εμφανιστούν τυπικές αποικίες αλλά εμφανιστούν άτυπες αποικίες, πραγματοποιήστε την εξέταση συλλέγοντας δείγμα από το σημείο ενοφθαλμισμού.

Επιβεβαίωση θετικών αποτελεσμάτων: Σύμφωνα με το πρωτόκολλο πιστοποιημένων NF ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ, όλα τα θετικά αποτελέσματα που προκύπτουν με τη μέθοδο AccuProbe πρέπει να επιβεβαιώνονται. Η επιβεβαίωση πρέπει να γίνεται με μία από τις παρακάτω τρεις επιλογές:

- Σύμφωνα με τις κλασικές μεθόδους αναφοράς που περιγράφονται από τα CEN, ISO ή AFNOR, οι οποίες περιλαμβάνουν ένα βήμα καθαρισμού σε θρεπτικό άγαρ.
- Χρησιμοποιώντας ένα χρωμογόνο υλικό, όπως το *Listeria* κατά Ottaviani και Agosti, το οποίο περιγράφεται στο πρότυπο ISO 11290-1 ή χρησιμοποιώντας ένα χρωμογόνο υλικό, το οποίο περιλαμβάνεται στην επικυρωμένη από τον AFNOR μέθοδο. Χρησιμοποιώντας έναν κρίκο 1 μl, συλλέξτε δείγμα από το σημείο ενοφθαλμισμού του εκλεκτικού τρυβλίου, το οποίο έδωσε το θετικό αποτέλεσμα AccuProbe και προχωρήστε σε απομόνωση στα χρωμογόνα υλικά. Ενοφθαλμίστε το τρυβλίο στη θερμοκρασία και το χρόνο που υποδεικνύεται από τον κατασκευαστή. Η παρουσία απομονωμένων χαρακτηριστικών αποικιών επιβεβαιώνει το αποτέλεσμα AccuProbe. Τα ακόλουθα χρωμογόνα υλικά έχουν εξεταστεί κατά τη διάρκεια επικυρώσεων AFNOR, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν τα έτη 2003 και 2007: *Compass L. mono Agar (2003)*, *Chromagar Listeria (2003)*, *ALOA (2003)*, *Rapid' L. Mono (2003 and 2007)* και *OAA (2007)*.
- Χρήση οποιασδήποτε άλλης πιστοποιημένης μεθόδου από πιστοποίηση AFNOR, η οποία βασίζεται σε διαφορετική αρχή από τη μέθοδο AccuProbe. Πρέπει να χρησιμοποιηθεί το ολοκληρωμένο πρωτόκολλο που περιγράφεται για την επικυρωμένη μέθοδο.

Σε περίπτωση ασυμφωνίας αποτελεσμάτων: θετικό σύμφωνα με AccuProbe, μη επιβεβαιωμένο από τις κλασικές εξετάσεις που περιγράφονται στις πρότυπες μεθόδους CEN ή ISO ή μετά από απομόνωση σε χρωμογόνα υλικά ή σε σύγκριση με μια άλλη μέθοδο πιστοποιημένη NF ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ, το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για την επίδειξη της εγκυρότητας του αναφερόμενου αποτελέσματος.

Σε περίπτωση χρήσης χρωμογόνων υλικών, συνιστάται η συνέχιση της επώασης για άλλες 24 ώρες ή ο ενοφθαλισμός διαφορετικών χρωμογόνων υλικών από το θετικό εκλεκτικό τρυβλίο (Palcam ή Oxford).

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

LISTERIA MONOCYTOGENES CULTURE IDENTIFICATION TEST
(ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ)
(bioMérieux ref. 39500 / Hologic Cat. No. 102920)

20 Εξετάσεις

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

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

1 μL στείροι πλαστικοί κρίκοι ενοφθαλισμού, συρμάτινοι κρίκοι, πιπέτες Pasteur σφραγισμένες ή πλαστικές βελόνες για συλλογή αποικιών

Έλεγχος στελεχών καλλιέργειας

Συσκευή επώασης ή υδατόλουτρο ($37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$)

Υδατόλουτρο ή θερμαντική μονάδα* ($60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$)

Μικροδιανεμητές (Micropipettes) (50 μL, 300 μL)

Συστήματα επαναληπτικής αναρρόφησης (Re-pipettors) (50 μL, 300 μL)

Αναδευτήρας τύπου Vortex

*Οι θερμαντικές μονάδες στη θερμαντική πλάκα 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 Hologic Leader 50i)

(bioMérieux ref. 39400 / Hologic Cat. No. 103100i)

Hologic Heating Block (Θερμαντική μονάδα Hologic) ($60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$)

(bioMérieux ref. 39406)

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)

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

A. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΥ

1. Ρυθμίστε τη συσκευή επώασης ή το υδατόλουτρο στους $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
2. Ρυθμίστε το υδατόλουτρο ή τη θερμαντική μονάδα στους $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
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 *L. monocytogenes* (ATCC 35152) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θετικός ορός ελέγχου ενώ η καλλιέργεια *L. grayi* (ATCC 19120) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αρνητικός ορός ελέγχου.

Γ. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΥΒΡΙΔΙΣΜΟ

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 ασφαρίζοντάς 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 Αντιδραστηρίου Ανιχνευτή. **Εάν πρόκειται να εξεταστούν καλλιέργειες ζυμού, μην προσθέτετε Αντιδραστήριο 1 στα σωληνάρια Αντιδραστηρίου Ανιχνευτή.**
4. Μεταφέρετε την ανάπτυξη από το στερεό υλικό ή 50 μL μιας καλά αναμειγμένης καλλιέργειας ζυμού στα επισημασμένα σωληνάρια Αντιδραστηρίου Ανιχνευτή, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ. Αν εξετάζετε ανάπτυξη από στερεά υλικά, περιστρέψτε τον κρίκο ή τη βελόνα στο Αντιδραστήριο 1 (Αντιδραστήριο Λύσης) και αναμείξτε καλά.
5. Καλύψτε ξανά τα σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή και επωάστε για 5 λεπτά στους $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ σε υδατόλουτρο ή 10 λεπτά 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 Αντιδραστηρίου Ανιχνευτή.
2. Καλύψτε ξανά τα σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή και επωάστε για 15 λεπτά στους $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ σε υδατόλουτρο ή θερμομαντική μονάδα.

Ε. ΕΠΙΛΟΓΗ ΥΒΡΙΔΙΩΝ

1. Αφαιρέστε τα σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή από το υδατόλουτρο ή τη θερμομαντική μονάδα. 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. Επωάστε τα σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή για τουλάχιστον 5 λεπτά στους $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ σε υδατόλουτρο ή θερμομαντική μονάδα.
3. Αφαιρέστε τα σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή από το υδατόλουτρο ή τη θερμομαντική μονάδα 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 μονάδα.**

ΣΤ. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ

1. Επιλέξτε το κατάλληλο πρωτόκολλο στον αναλυτή χημειοφωταύγειας, σύμφωνα με τις συστάσεις του εσώκλειστου οδηγιών της συσκευής.
2. Χρησιμοποιώντας υγρό χαρτομάντιλο ή απορροφητικό χαρτί, σκουπίστε κάθε σωληνάριο για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχουν υπολείμματα στο εξωτερικό του σωληναρίου. Εισάγετε το σωληνάριο στον αναλυτή χημειοφωταύγειας και ακολουθήστε τις οδηγίες.
3. Όταν ολοκληρωθεί η ανάλυση, αφαιρέστε το σωληνάριο ή τα σωληνάκια 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 Υβριδισμού και Επιλογής εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Επομένως, είναι απαραίτητο να διατηρείται η συσκευή επώασης, το υδατόλουτρο ή η θερμομαντική μονάδα εντός του καθορισμένου εύρους θερμοκρασίας.

Γ. ΧΡΟΝΟΣ:

1. Η Αντίδραση Υβριδισμού πρέπει να ξεκινά σε διάστημα 1 ώρας από την προσθήκη των κυττάρων και του Αντιδραστήριου 1 στα σωληνάκια Αντιδραστήριου Ανιχνευτή.
2. Οι αντιδράσεις Υβριδισμού και Επιλογής εξαρτώνται από το χρόνο. Υποβάλλετε σε υβριδισμό για τουλάχιστον 15 λεπτά αλλά όχι περισσότερο από 20 λεπτά. Επώαση τα σωληνάκια με το Αντιδραστήριο Ανιχνευτή κατά το βήμα Επιλογής για 5 λεπτά τουλάχιστον αλλά όχι περισσότερο από 6 λεπτά.

Δ. ΥΔΑΤΟΛΟΥΤΡΟ: Θα πρέπει να διατηρείται η στάθμη του νερού στο υδατόλουτρο, ώστε να διασφαλίζεται ότι είναι βυθισμένο το σύνολο του όγκου του υγρού αντίδρασης στα σωληνάκια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή.

E. ΑΝΑΚΙΝΗΣΗ ΜΕ VORTEX: Είναι κρίσιμης σημασίας να προκύψει ένα ομοιογενές μείγμα κατά το Βήμα Επιλογής, ιδίως μετά την προσθήκη του Αντιδραστήριου 3.

ΣΤ. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

1. Υψηλές αρνητικές τιμές ελέγχου (*L. grayi* ATCC 19120) άνω των 20.000 RLU (Σχετικές Μονάδες Φωτός) στον αναλυτή χημειοφωταύγειας Leader ή 600 PLU (Φωτομετρικές Μονάδες Φωτός) στον αναλυτή χημειοφωταύγειας AccuLDR (πρώην PAL) μπορεί να προκύψουν από ανεπαρκή ανάμειξη μετά την προσθήκη του Αντιδραστήριου 3 (Αντιδραστήριο Επιλογής) ή από την εξέταση ανάμεικτων καλλιιεργειών. Επειδή μπορεί να προκύψουν ανάμεικτες 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 (*L. monocytogenes* ATCC 35152) κάτω των 50.000 RLU στον αναλυτή χημειοφωταύγειας Leader ή 1.500 PLU στον αναλυτή χημειοφωταύγειας AccuLDR (πρώην PAL) μπορεί να προκύψουν από ανεπαρκή αριθμό κυττάρων ή από εξέταση ανάμεικτων ή παλαιών καλλιιεργειών. Επειδή μπορεί να προκύψουν ανάμεικτες καλλιέργειες, 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 LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ βασίζονται στις ακόλουθες τιμές cut-off. Τα δείγματα που παράγουν σήματα μεγαλύτερα από ή ίσα με αυτές τις τιμές cut-off θεωρούνται θετικά. Σήματα μικρότερα από αυτές τις τιμές cut-off θεωρούνται αρνητικά.

Για αποτελέσματα εντός του διφορούμενου πεδίου τιμών η εξέταση θα πρέπει να επαναλαμβάνεται. Αν από τη δεύτερη εξέταση εξακολουθεί να προκύπτει αμφίβολο αποτέλεσμα, το στέλεχος θα πρέπει να ανακαλλιεργηθεί, ώστε να ελεγχθεί η καθαρότητά του.

	AccuLDR (πρώην PAL)	Leader
Τιμή cut-off	1.500 PLU	50.000 RLU
Διφορούμενο πεδίο τιμών	1.200-1.499 PLU	40.000-49.999 RLU

B. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΧΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Οι αρνητικοί έλεγχοι (π.χ., *L. grayi*, ATCC 19120) και οι θετικοί έλεγχοι (π.χ., *L. monocytogenes*, ATCC 35152) 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

Αν οι έλεγχοι είναι εκτός εύρους, τα αποτελέσματα των εξετάσεων δεν πρέπει να ληφθούν υπόψη.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η μέθοδος αυτή έχει εξεταστεί χρησιμοποιώντας πρόσφατη ανάπτυξη από στερεά υλικά και καλλιέργειες ζωμού που αναφέρονται στην ενότητα ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ. Η αποτελεσματικότητα αυτής της εξέτασης δεν έχει αποδειχθεί σε απευθείας κλινικά δείγματα (π.χ. εγκεφαλονωτιαίο υγρό ή δείγματα αίματος).

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

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ συγκρίθηκε με τυπικές μεθόδους βιοχημικής ταυτοποίησης καλλιέργειας χρησιμοποιώντας 175 απομονωμένα στελέχη του είδους *L. monocytogenes* και 102 πρόσθετα απομονωμένα στελέχη 21 άλλων γενών σε 2 κλινικούς τύπους. Πραγματοποιήθηκε μια δεύτερη αξιολόγηση με 296 στελέχη απομονωμένα από ύποπτα μολυσμένα τρόφιμα. Τα απομονωμένα στελέχη κατηγοριοποιήθηκαν ως θετικά (> 50.000 RLU) ή αρνητικά (< 40.000 RLU). Το εύρος των παρατηρήσεων για αρνητικές καλλιέργειες ήταν 520 έως 27.990 RLU και 77.088 έως 1.283.789 RLU για θετικές καλλιέργειες. Μια σύγκριση αυτών των αποτελεσμάτων με τις πρότυπες 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		175	0	0	102	100% / 100% 100%
Τόπος 2		81	1	0	110	100% / 99,5% 99,7%
Σύνολο		256	1	0	212	100% / 99,7% 99,8%

Ένα θετικό στο AccuProbe, αρνητικό στην καλλιέργεια απομονωμένο στέλεχος από τον Τόπο 2 επανεξετάστηκε με την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ αποδίδοντας αρνητικό αποτέλεσμα.

ΑΠΟΔΟΣΗ

A. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΕΝΤΟΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ

Η ακρίβεια εντός της σειράς της ΕΞΕΤΑΣΗΣ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ υπολογίστηκε αναλύοντας τρεις συγκεντρώσεις ριβσοωμικού RNA που απομονώθηκε από *L. monocytogenes* χρησιμοποιώντας 10 αντίγραφα σε μία μόνο ανάλυση.

Δείγμα	A	B	C
Αριθμός αντιγράφων	10	10	10
Μέσος όρος Απόκρισης (RLU)	132,370	72,720	41,074
Τυπική Απόκλιση	9,981	3,126	3,837
Συντελεστής Διακύμανσης	7,5%	4,3%	9,3%

B. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΣΕΙΡΩΝ

Η ακρίβεια μεταξύ των σειρών υπολογίστηκε αναλύοντας τις ίδιες τρεις συγκεντρώσεις ριβσοωμικού RNA *L. monocytogenes* χρησιμοποιώντας απλούς προσδιορισμούς σε 12 συνεχόμενες σειρές.

Δείγμα	A	B	C
Αριθμός αντιγράφων	12	12	12
Μέσος όρος Απόκρισης (RLU)	146,469	77,240	41,074
Τυπική Απόκλιση	19,793	8,634	4,343
Συντελεστής Διακύμανσης	13,5%	11,2%	10,8%

Γ. ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Αξιολογήθηκαν συνολικά 97 στελέχη ATCC χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ LISTERIA MONOCYTOGENES ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. Τα απομονωμένα αυτά στελέχη αντιπροσώπευαν συνολικά 87 είδη από 53 γένη. Εξετάστηκαν 15 απομονωμένα στελέχη από 7 είδη *Listeria* (*L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. murrayi*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*). Θετικά αποτελέσματα προέκυψαν μόνο από τα απομονωμένα στελέχη του *L. monocytogenes*.

Δ. ΑΝΑΚΤΗΣΗ

Αναλύθηκαν πέντε διαδοχικές αραιώσεις του *L. monocytogenes* (με εύρος από 0 έως 30 εκατομμύρια κύτταρα ανά εξέταση) παρουσία 30 εκατομμυρίων κυττάρων από τα παρακάτω επιλεγμένα μη στοχευόμενα είδη: *L. grayi*, *L. ivanovii*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Brochothryx thermophacta*. Δεν παρατηρήθηκε παρεμβολή ή διασταυρούμενες αντιδράσεις.

Ε. ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Εντός του πλαισίου εργασιών του σήματος NF ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ, προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα κατά την προκαταρκτική μελέτη:

-Συμπεριληπτικότητα/αποκλειστικότητα: ανιχνεύθηκαν και τα 50 στελέχη *Listeria monocytogenes* που εξετάστηκαν. Η μελέτη 18 στελεχών *Listeria* (μη *monocytogenes*) και 12 στελεχών που δεν ανήκαν στο γένος *Listeria* δεν αποκάλυψε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα.

-Σχετικό επίπεδο ανίχνευσης: η μέθοδος AccuProbe και η μέθοδος αναφοράς ISO 11290-1 έχουν το ίδιο όριο ανίχνευσης 50%: μεταξύ 0,3 και 5,2 CFU/25g.

-Συγκριτική μελέτη: Εξετάστηκαν ταυτόχρονα 346 δείγματα με τη μέθοδο AccuProbe (άγαρ Palcam) και τη μέθοδο EN ISO 11290-1. Προέκυψαν τα ακόλουθα αποτελέσματα:

- Ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα με τη μέθοδο AccuProbe: 3
- Πρόσθετα θετικά αποτελέσματα με τη μέθοδο AccuProbe: 8
- Σύμφωνα αποτελέσματα: 335

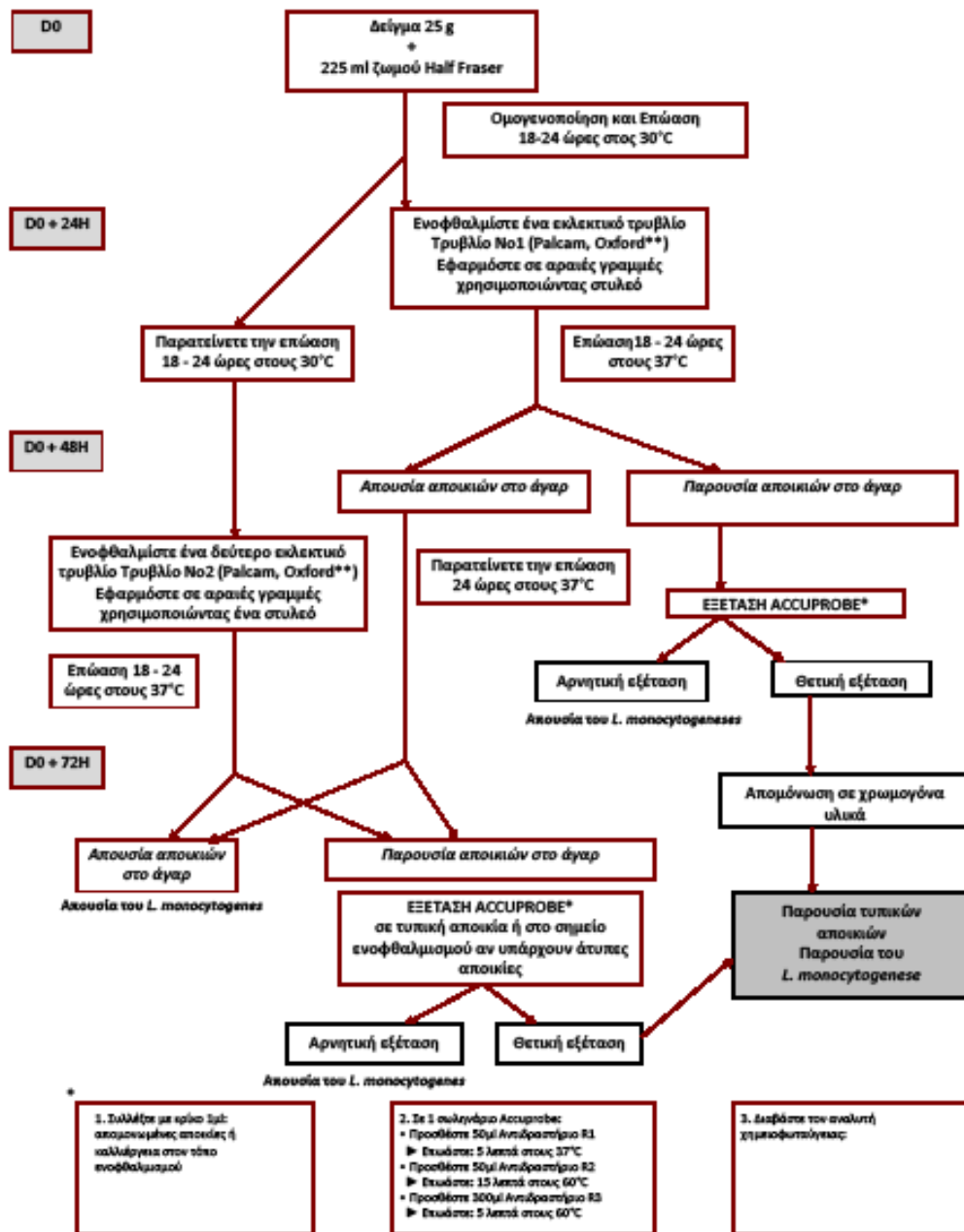
Η μέθοδος AccuProbe *Listeria monocytogenes* έχει πιστοποιηθεί από την πιστοποίηση AFNOR ως εναλλακτική μέθοδος για την ανάλυση προϊόντων τροφίμων για τον άνθρωπο και περιβαλλοντικών δειγμάτων παραγωγής. Αυτή η έγκριση ελήφθη μέσω σύγκρισης με τη μέθοδο αναφοράς που περιγράφεται στο πρότυπο EN ISO 11290-1A1 και σύμφωνα με το πρωτόκολλο που περιγράφεται στο πρότυπο EN ISO 16140.
Η πιστοποίηση BIO 12/4-02/95 μπορεί να ληφθεί από το Τμήμα μας Τεχνικής Βοήθειας ή από την πιστοποίηση AFNOR. Η ημερομηνία λήξης ισχύος της NF ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ υποδεικνύεται στο πιστοποιητικό.



BIO 12/4 - 02/95
ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΑΓΡΟΤΡΟΦΙΚΟ ΤΟΜΕΑ
Πιστοποιημένο από τον οργανισμό AFAQ AFNOR Certification
www.afnor.org

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ
«ΤΑΧΕΙΑ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ LISTERIA MONOCYTOGENES»
Certification AFNOR* AP. N° BIO 12/4 - 02/95

*AFNOR: Γαλλικός Οργανισμός Τυποποίησης



** Palcam: για όλα τα προϊόντα τροφίμων και τα περιβαλλοντικά δείγματα, Oxford : για γαλακτοκομικά προϊόντα

LITERATURA

1. **Bobbitt J. A. y R. P. Betts.** 1992. Confirmation of *Listeria monocytogenes* using a commercially available nucleic acid probe. *Food Microbiol.*, Volume 9, p. 311-317.
2. **Bortolussi, R., W. F. Schlech, III y W. Albritton.** 1985. *Listeria*, p. 205-208. In E. H. Lennette, et al. (ed.) *Manual of clinical microbiology*, 4th Ed. American Society for Microbiology, Washington D. C.
3. **Centers for Disease Control and Prevention.** 1988. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. 37:377-382, 387-388.
4. **Gilchrist, M. J. R.** 1988. *Listeriosis* p. 353-359. In Balows, et al. (ed.). *Laboratory diagnosis of infectious diseases, principles and practice*. Volume 1. Springer-Verlag, New York.
5. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes*. 1989. p. 1-56. In Jones, G.L. (ed.) U.S. Department of Health and Human Service, Public Health Service, Centers for Disease Control, Atlanta, GA.
6. **Kohne, D. E., A. G. Steigerwalt y D. J. Brenner.** 1984. Nucleic acid probe specific for members of the genus *Legionella*, p. 107-108. In C. Thornsberry, et al. (ed.) *Legionella: proceedings of the 2nd international symposium*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. **Ninet B., E. Bannerman y J. Bille.** 1992. Assessment of the ACCUPROBE *Listeria monocytogenes* Culture Identification Reagent Kit For Rapid Colony Confirmation and its application in various enrichment broths. *Applied Environ. Microbiol.*, Volume 58, p. 4055-4059.
8. **Seeliger, H. P. R. y D. Jones.** 1986. Genus *Listeria* pirie 1940. p. 1235-1245. In P. H. A. Sneath, et al, (ed.). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 2. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, MD.

Other selected papers:

9. Evaluation of a DNA-Probe assay for the identification of *Listeria monocytogenes*. By L. Herman and H. De Ridder. *Milchwissenschaft* 48 (3), 1993, p. 126-128.
10. Evaluation of a chemiluminescent DNA probe assay for the rapid confirmation of *Listeria monocytogenes*. O. Okwumbua, B. Swaminathan, P. Edmonds, J. Wenger, J. Hogan y M. Alden. *Res. Microbiol.* 143, 1992, p 183-189.
11. ISO 11290-1/A1 - Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Partie 1: méthode de recherche (2004).
12. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations - ISO 7218.



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



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Το Hologic, το AccuProbe, και το Leader αποτελούν εμπορικά σήματα ή/και εμπορικά σήματα κατατεθέντα της εταιρείας Hologic, Inc. ή/και των θυγατρικών της στις Ηνωμένες Πολιτείες ή/και σε άλλες χώρες.

Οποιαδήποτε άλλα εμπορικά σήματα που μπορεί να παρουσιάζονται σε αυτό το ένθετο συσκευασίας αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους.

Το ALOA είναι εμπορικό σήμα της Biolife Italiana S.r.l.

Το CHROMAGAR είναι εμπορικό σήμα της Alain Rambach.

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.

103051F-01-EL Rev. 003 2018-03

©1990 – 2018 Hologic, Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.