



AccuProbe®

ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ NEISSERIA GONORRHOEAE (bioMerieux ref. 39200 / Gen-Probe Cat. No. 2830)

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Η γονόρροια είναι η συχνότερα αναφερόμενη βακτηριακή λοίμωξη στις Ηνωμένες Πολιτείες με περίπου 767.000 περιπτώσεις το 1987. Αυτή η σεξουαλικά μεταδιδόμενη νόσος προκαλεί ουρηθρίτιδα συνοδευόμενη από πυώδες έκκριμα στους άνδρες. Στις γυναίκες, η νόσος εντοπίζεται συχνότερα στον τράχηλο. Παρότι μπορούν να προκληθούν σοβαρές παρενέργειες και στειρότητα στα άτομα που δεν ακολουθούν θεραπεία, γίνεται συχνά διάγνωση ασυμπτωματικών λοιμώξεων. Οι γονοκοκκικές λοιμώξεις μπορούν επίσης να διαγνωσθούν από άλλες βλεννώδεις μεμβράνες συμπεριλαμβανομένων του επιπεφυκότα, του πρωκτού και του στοματοφάρυγγα (8).

Η *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*) είναι ο αιτιολογικός παράγοντας της γονόρροιας. Η *N. gonorrhoeae* είναι ένας αρνητικός κατά Gram, θετικός στην οξειδάση διπλόκοκκος που έχει συγκεκριμένες απαιτήσεις ανάπτυξης (3, 5, 7, 12, 14). Η ενδεικτική διάγνωση γονόρροιας βασίζεται στην συλλογή του οργανισμού από καλλιέργεια, την εξέταση της μορφολογίας με χρώση κατά Gram και τον προσδιορισμό της παρουσίας οξειδάσης του κυτοχρώματος (3, 5, 9). Οι επιπρόσθετες επιβεβαιωτικές διαδικασίες για την οριστική ταυτοποίηση της *N. Gonorrhoeae* περιλαμβάνουν τη χρώση με φθορίζον αντίσωμα, την αποικοδόμηση υδατανθράκων και τις εξετάσεις ζύμωσης σακχάρων (2, 4, 10, 11, 13).

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ NEISSERIA GONORRHOEAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ταυτοποιεί τη *N. gonorrhoeae* που απομονώνεται από καλλιέργεια μέσα σε 30 λεπτά.

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 (6). Το ΣΥΣΤΗΜΑ 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 GEN-PROBE. 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.

ΑΝΤΙΑΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Τα αντιδραστήρια για την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ NEISSERIA GONORRHOEAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ διατίθενται σε τρεις διαφορετικές συσκευασίες:

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ ACCUPROBE ΓΙΑ NEISSERIA GONORRHOEAE

Αντιδραστήριο Ανιχνευτή (Probe Reagent) (P) (2 x 10 σωληνάρια)
Neisseria gonorrhoeae

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT (ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΑΝΤΙΑΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ 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 (Αντιδραστήριο Υβριδισμού) (Hybridization Reagent) (2) 1 x 10 mL
ρυθμιστικό διάλυμα

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

GEN-PROBE DETECTION REAGENT KIT (ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ GEN-PROBE ΑΝΤΙΑΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ 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 υδροξείδιο του νατρίου

ΠΡΟΕΙΛΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

A. Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

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

Γ. Χρησιμοποιείτε την ανάλυση μόνο για τη *N. gonorrhoeae* που έχει απομονωθεί από καλλιέργεια.

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

E. 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 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 NEISSERIA GONORRHOEAE 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 NEISSERIA GONORRHOEAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ είναι σχεδιασμένη για την ταυτοποίηση της *N.gonorrhoeae* που έχει απομονωθεί από καλλιέργεια.

A. Μέθοδος Στερεών Υλικών. Μπορεί να γίνει εξέταση της ανάπτυξης σε κατάλληλα στερεά υλικά με μορφολογία που υποδηλώνει *N.gonorrhoeae*. Τα δείγματα μπορούν να εξεταστούν αμέσως μόλις είναι ορατή η ανάπτυξη αλλά θα πρέπει να είναι πιο πρόσφατη από 48 ώρες.

1. Η ανάπτυξη μπορεί να αφαιρεθεί με ένα 1 mL πλαστικό κρίκο μιας χρήσης, συρμάτινο κρίκο, πλαστική βελόνα μιας χρήσης ή ράβδο εφαρμογής. Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται στυλεοί λόγω της μικρής ποσότητας υγρού στο οποίο κατόπιν επαναιωρούνται τα κύτταρα.

2. Αν πρόκειται να εξεταστεί μια αποικία, θα πρέπει να έχει διάμετρο τουλάχιστον 1 mm. Ένας 1 mL κρίκος ανάπτυξης κυττάρων ή αρκετές (3 έως 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.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ NEISSERIA GONORRHOEAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

(bioMerieux ref. 39200 / Gen-Probe Cat. No. 2830)

20 Εξετάσεις

Αντιδραστήριο Ανιχνευτή (Probe Reagent) (P) 2 x 10 σωληνάρια

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

1 mL στείροι πλαστικοί κρίκοι ενοφθαλμισμού, συρμάτινοι κρίκοι, πλαστικές βελόνες ή ράβδοι εφαρμογής για επιλογή αποικιών.

Έλεγχος Στελεχών καλλιέργειας

Υδατόλουτρο ή θερμοαντική πλάκα ($60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$)

Μικροδιανεμητές (Micropipettes) (50 μL , 300 μL)

Σύστημα επαναληπτικής αναρρόφησης (Re-pipettor) (50 μL , 300 μL)

Αναδευτήρας τύπου Vortex

ΔΙΑΤΙΘΕΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΤΟΠΙΚΟ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΟ GEN-PROBE

GEN-PROBE LEADER 50i Luminometer (Αναλυτής χημειοφωταύγειας)

(bioMerieux ref. 39400 / Gen-Probe Cat. No. 3100i)

GEN-PROBE Heating Block (Θερμαντική πλάκα)($60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$)

(bioMerieux ref. 39406 / Gen-Probe Cat. No. 3397)

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT

(ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ)

(bioMerieux ref. 39305 / Gen-Probe Cat. No. 2800)

GEN-PROBE DETECTION REAGENT KIT

(ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ GEN-PROBE ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ)

(bioMerieux ref. 39300 / Gen-Probe Cat. No. 1791)

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

A. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΥ

1. Ρυθμίστε τη θερμομαντική πλάκα ή το υδατόλουτρο στους $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
2. Ετοιμάστε τον αναλυτή χημειοφωταύγειας GEN-PROBE 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 *N.gonorrhoeae* (π.χ., American Type Culture Collection, ATCC #19424) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θετικός έλεγχος ενώ η καλλιέργεια *Neisseria meningitidis* (π.χ., ATCC #13077) 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 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 πόματα.
3. Εισάγετε 50 μL του Αντιδραστηρίου 1 (Αντιδραστήριο Λύσης) σε όλα τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή.
4. Μεταφέρετε το δείγμα από τα στερεά υλικά στα σημασμένα Σωληνάρια Αντιδραστηρίου Ανιχνευτή που περιγράφονται στο Τμήμα ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ. Περιστρέψτε τον κρίκο, τη βελόνα ή τη ράβδο στο Αντιδραστήριο 1 (Αντιδραστήριο Λύσης) για να αφαιρέσετε τα κύτταρα.

Δ. ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ

1. Εισάγετε 50 μL του Αντιδραστηρίου 2 (Ρυθμιστικό Διάλυμα Υβριδισμού) σε όλα τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή. Καλύψτε ξανά τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή και αναμείξτε ανακινώντας ή με votrex.
2. Επωάστε για 15 λεπτά στους $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ σε υδατόλουτρο ή θερμομαντική πλάκα.

E. ΕΠΙΛΟΓΗ

1. Αφαιρέστε τα Σωληνάρια με Αντιδραστήριο Ανιχνευτή από το υδατόλουτρο ή τη θερμαντική 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 $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 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 30 λεπτών από την αφαίρεση τους από το υδατόλουτρο ή τη θερμαντική 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° έως 60°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. 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 (*Neisseria meningitidis* ATCC #13077) 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 (*N. gonorrhoeae* ATCC #19424) κάτω των 50.000 RLU στο LEADER ή 1.500 PLU στον αναλυτή χημειοφωταύγειας 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

A. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα αποτελέσματα της ΕΞΕΤΑΣΗΣ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ NEISSERIA GONORRHOEAE 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 LEADER

(πρώην PAL)

Τιμή Cut-off 1.500 PLU 50.000 RLU

Εύρος επανάληψης 1200-1499 PLU 40.000-49.999 RLU

B. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΧΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ο αρνητικός έλεγχος (π.χ., *N. meningitidis*, ATCC #13077) και ο θετικός έλεγχος (π.χ., *N. gonorrhoeae*, ATCC #19424) θα πρέπει να ικανοποιούν τις ακόλουθες τιμές:

ACCULDR LEADER

(πρώην PAL)

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 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 NEISSERIA GONORRHEAE 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 NEISSERIA GONORRHOEAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ συγκρίθηκε με τυπικές τεχνικές ταυτοποίησης από καλλιέργεια σε τρία κλινικά σημεία χρησιμοποιώντας 308 απομονωμένα στελέχη *N. gonorrhoeae* και 239 άλλα απομονωμένα βακτηριακά στελέχη που αντιπροσωπεύουν 46 γένη. Οι πρότυπες μέθοδοι ταυτοποίησης καλλιέργειας περιλαμβάνουν τη χρώση κατά Gram, τις αντιδράσεις οξειδάσης και μια σειρά εξετάσεων αποικοδόμησης υδατανθράκων ή μία από τις μεθόδους ταυτοποίησης που κυκλοφορούν. Τα απομονωμένα στελέχη κατηγοριοποιήθηκαν ως θετικά (≥ 50.000 RLU) ή αρνητικά (< 50.000 RLU). Το εύρος των παρατηρήσεων για αρνητικές καλλιέργειες ήταν 200 έως 41.219 RLU και 56.741 έως 1.072.977 RLU για θετικές καλλιέργειες. Μια σύγκριση αυτών των αποτελεσμάτων με τις τυπικές μεθόδους ταυτοποίησης από καλλιέργεια παρουσιάζεται παρακάτω.

ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

ACCUPROBE Θετ. Θετ. Αρν. Αρν. Ευαισθησία/ Ποσοστό Καλλιέργεια Θετ. Αρν. Θετ. Αρν. Συμφωνία Ειδικότητας

Σημείο 1 149 0 0 124 100%/100% 100%

Σημείο 2 104 0 101 100%/100% 100%

Σημείο 3 55 0 0 14 100%/100% 100%

Σημείο 308 0 239 100%/100% 100%

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

A. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΕΝΤΟΣ ΤΗΣ ΣΕΙΡΑΣ

Η ακρίβεια εντός της σειράς της ΕΞΕΤΑΣΗΣ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ NEISSERIA GONORRHEAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ υπολογίστηκε αναλύοντας δύο συγκεντρώσεις ριβοσωμικού RNA που απομονώθηκε από *N. gonorrhoeae* χρησιμοποιώντας 10 αντίγραφα σε μια μόνο ανάλυση.

Δείγμα	A	B
Αριθμός Αντιγράφων	10	10
Μέση Απόκριση	60.572	100.904
Τυπική Απόκλιση	1.030	2.502
Συντελεστής Διακύμανσης	1,7%	2,5%

B. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΣΕΙΡΩΝ

Η ακρίβεια μεταξύ των σειρών υπολογίστηκε αναλύοντας τις ίδιες δύο συγκεντρώσεις ριβσοσμικού RNA της *N. gonorrhoeae* χρησιμοποιώντας απλούς προσδιορισμούς σε 12 συνεχόμενες σειρές.

Δείγμα	A	B
Αριθμός Αντιγράφων	12	12
Μέση Απόκριση	55.825	97.168
Τυπική Απόκλιση	4.472	6.082
Συντελεστής Διακύμανσης	8,0%	6,3%


Γ. ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Αξιολογήθηκαν συνολικά 155 απομονωμένα στελέχη *N. gonorrhoeae* και 231 άλλα στελέχη από καλλιέργεια χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ NEISSERIA GONORRHEAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. Αυτά τα απομονωμένα στελέχη αντιπροσώπευαν συνολικά

79 είδη από 46 γένη. Πενήντα έξι απομονωμένα στελέχη από 11 είδη *Neisseria*, περιλαμβανομένων των *N. lactamica* και *N. meningitidis*, και 67 άλλα είδη από 45 γένη που αποτελούσαν αντιπροσωπευτικούς φυλογενετικά διασταυρούμενους οργανισμούς αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ NEISSERIA GONORRHEAE ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. Μόνο εκείνα τα απομονωμένα στελέχη *Neisseria gonorrhoeae* παρήγαγαν θετικό αποτέλεσμα.

Δ. ΑΝΑΚΤΗΣΗ

Προστέθηκε *Neisseria meningitidis* σε συγκεντρώσεις 10 εκατομμυρίων κυττάρων ανά μεμονωμένη εξέταση και σε δείγματα που περιείχαν από 1000 έως 10 εκατομμύρια κύτταρα *N. gonorrhoeae*. Το *N. meningitidis* δεν αντέδρασε στην εξέταση ούτε παρεμβλήθη στην ανασύσταση του *N. gonorrhoeae* χρησιμοποιώντας την ΕΞΕΤΑΣΗ ACCUPROBE ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ NEISSERIA GONORRHEAE ΑΠΟ ΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ.


Gen-Probe Incorporated
San Diego, CA 92121 (USA)



EC	REP
-----------	------------

Authorized Representative
EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH The Hague
The Netherlands

102846F-01-EL Rev. C 2011-03
© 1989 - 2011 Gen-Probe Incorporated