

AccuProbe®

MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST

POUZE PRO EXPORT
(bioMérieux ref. 39001 / Hologic Cat. No. 102845)

PŘEDPOKLÁDANÉ POUŽITÍ

The ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST je rychlá testovací sonda DNA využívající techniku hybridizace nukleových kyselin pro identifikaci komplexu *Mycobacterium avium* (*M. avium* komplex) z kultury.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ TESTU

Infekce způsobené členy komplexu *M. avium* jsou nejčastějšími mykobakteriálními infekcemi spojenými s AIDS a vyskytujícími se u jiných imunokomprimovaných pacientů (7, 15). Incidence *M. avium* komplex jako klinicky významného patogenního agens v případech chronické pulmonální nemoci rovněž vzrůstá (8, 17). V poslední době je v některých laboratořích incidence *M. avium* komplex stejná nebo vyšší než incidence *M. tuberculosis* (17). Léčba těchto infekcí je obtížná a navíc pro svoji závažnost tyto infekce vyžadují rychlou diagnostiku.

M. avium komplex sestává z pomalu rostoucích mykobakterií, které produkují málo pigmentu nebo neprodukují pigment žádný, nehydrolyzují TWEEN 80 nebo močovinu, neredukují dusičnany, produkují méně než 45 mm pěny v semikvantitativním katalázovém testu a mají pozitivní nikotinamidázu a pyrazinamidázu. Obecně se má za to, že *M. avium* komplex se skládá ze dvou druhů: *M. avium* a *M. intracellulare* (19). Fenotypicky jsou *M. avium* a *M. intracellulare* téměř nerozlišitelné a ani biochemické testy nejsou schopny je rozlišit.

Běžně používanými metodami pro identifikaci izolátů jako členů *M. avium* komplex jsou kultivační a biochemické postupy, určení sérotypu, plynová kapalinová chromatografie, vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) a izotopově značené sondy DNA, které reagují s ribozomální RNA (rychlý diagnostický systém Hologic pro MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX) (1, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 16, 18). Kromě toho lze většinu kmenů *M. avium* komplex identifikovat buď jako *M. avium* nebo *M. intracellulare* sérotypizací s adsorbovaným sérem obsahujícím protilátky specifické vůči povrchovým buněčným antigenům. Nedávné studie s T-katalázou, polymorfismu restrikčních délkových fragmentů a hybridizací DNA-DNA ukázaly, že některé sérotypy dříve považované za *M. intracellulare* ve skutečnosti patří k druhu *M. avium* (1, 14, 21).

Existuje však malé množství biochemicky určených izolátů *M. avium* komplex, které nelze spolehlivě určit jako *M. avium* nebo *M. intracellulare* žádnou z výše uvedených metod. Přesný taxonomický status těchto kmenů je v současnosti nejasný. ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST je určen k detekci *M. avium*, *M. intracellulare* a jiných izolátů nedávno identifikovaných jako *M. avium* komplex. Nerozlišuje mezi jednotlivými druhy v rámci komplexu (20, 22, 23). Vzácně nemusí některé izoláty *M. avium* komplex poskytovat v tomto testu pozitivní reakci.

PRINCIPY POSTUPU

Testy hybridizace nukleových kyselin jsou založeny na schopnosti komplementárních vláken nukleových kyselin se specificky řadit a vytvářet stabilní dvouvláknové komplexy (4). Systém AccuProbe používá jednovláknovou sondu DNA s chemiluminiscenčním značením, která je komplementární ribosomální RNA cílového organismu. Poté, co se ribosomální RNA uvolní z organismu, spojí se značená sonda DNA s ribosomální RNA cílového organismu a vytvoří se stabilní hybrid DNA:RNA. Volba činidla umožňuje rozlišení nehybridizované a hybridizované sondy. Značené hybridy DNA:RNA se měří v luminometru Hologic. Pozitivní výsledek je takový, kdy je pomocí luminometru odečtena hodnota stejná nebo vyšší než mezní hodnota. Hodnota nižší než mezní hodnota představuje negativní výsledek.

ČINIDLA

Poznámka: Informace o H-větvách a P-větvách, které mohou být spojeny s reagensy, naleznete v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologic.com/sds.

Činidla pro ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST se dodávají ve třech samostatných kitech:

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX PROBE KIT

Činidlo pro sondu (P) <i>Mycobacterium avium</i> komplex.	(4 x 5 zkumavek)
Lyzující zkumavky (LT) Skleněné kuličky a pufr.	(1 x 20 zkumavek)

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT

Činidlo 1 (Lyzující činidlo) (1) pufrovaný roztok obsahující 0,04 % azidu sodného	1 x 10 ml
Činidlo 2 (Hybridizační pufr) (2) pufrovaný roztok	1 x 10 ml
Činidlo 3 (Selekční činidlo) (3) pufrovaný roztok	1 x 60 ml

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT

Detekční činidlo I (RI) 0,1% peroxid vodíku v 0,001N kyselině dusičné	1 x 240 ml
Detekční činidlo II (RII) 1N hydroxid sodný	1 x 240 ml

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

- Pro diagnostické použití *in vitro*.
- Při provádění této zkoušky zachovávejte obecná opatření (2).
- Používejte pouze k identifikaci *M. avium* komplex izolovaného z kultury.
- Používejte pouze dodávané nebo specifikované jednorázové laboratorní pomůcky.
- Zacházení s kulturami a všechny kroky postupu až do kroku inaktivace zahříváním je nutno provádět v laboratoři vybavené na 2. stupeň biologické bezpečnosti.
- Činidla kitu obsahují azid sodný, který může reagovat s olověným nebo měděným potrubím za vzniku výbušných azidů kovů. Pokud se likviduje jakákoli kapalina obsahující azid sodný do výlevky, je nutno ji propláchnout vodou, aby se zabránilo jejímu hromadění.
- Nevystavujte pokožku, oči a sliznice styku s detekčním činidlem I a II. V případě styku s těmito činidly omyjte příslušné místo vodou. Pokud dojde k rozlití těchto činidel, rozřeďte je vodou předtím, než místo otřete dosucha.

PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ A ZACHÁZENÍ

Zkumavky s činidly sondy se musí skladovat ve foliovém pouzdru při teplotě 2 až 8 °C. Zkumavky s činidly sondy jsou stabilní v uzavřených pouzdrech až do data expirace vyznačeného na obalu. Po otevření je nutno pouzdro opět uzavřít a zkumavky je třeba použít do dvou měsíců, nejpozději do data expirace vyznačeného na obalu.

Další činidla přítomná v ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST lze skladovat při teplotě 2 až 25 °C, ve které jsou stabilní až do data expirace vyznačeného na obalu.

ČINIDLA NEZMRAZUJTE.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST je určen k identifikaci *Mycobacterium avium* komplex z kultury.

- Metoda kultivace na pevném médiu.** Předpokládaný růst *M. avium* komplex lze testovat na vhodném pevném médiu, jako jsou Lowenstein-Jensenův šikmý agar nebo plotny Middlebrook 7H10 nebo 7H11. Vzorky lze testovat jakmile je růst viditelný a během následujících šedesáti dnů inkubace.
 - Vyrostlé kultury lze nabrat plastovou jednorázovou kličkou o objemu 1 µl, drátěnou kličkou nebo jednorázovou plastovou jehlou. Tampóny nelze používat, protože se buňky následně resuspendují v malém objemu kapaliny.
 - Nenaberte s buňkami pevné médium.
 - Současně je možné inokulovat jinou kultivační plotnu, aby se potvrdila čistota izolátu.
- Metoda kultivace v bujónu.** Pomocí testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST lze testovat růst v bujónu Middlebrook 7H9 se zákalem rovným nebo větším než

nefelometrický standard 1 McFarlanda. Pipetujte 100 µl vzorku z dobře promíchané suspenze bujónu do zkumavky s lyzujícím činidlem, jak je popsáno dále.

DODÁVANÉ MATERIÁLY

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST
bioMérieux ref. 39001 / Hologic Cat. No. 102845

Činidlo pro sondu (P)	20 testů
Lyzující zkumavky (LT)	4 x 5 zkumavek 1 x 20 zkumavek

POTŘEBNÉ ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

plastové sterilní inokulační kličky o objemu 1 µl, drátěné kličky nebo plastové jehly pro selekci kolonií kmeny pro kontrolu kultivace

vodní lázeň nebo lázeň se suchým teplem* (60 ± 1 °C)

vodní lázeň nebo lázeň se suchým teplem * (95 ± 5 °C)

mikropipety (100 µl, 300 µl)

re-pipetor (100 µl, 300 µl)

mísidlo typu Vortex

nefelometrický standard 1 McFarlanda

*Zahřívací tělesa u lázně se suchým teplem musí mít jamky s velikostí odpovídající zkumavkám o rozměrech 12 x 75 mm. Doporučuje se použití lázně se suchým teplem Hologic.

DODÁVÁ VÁŠ DISTRIBUTOR HOLOGIC

Luminometr Hologic Leader 50i

(bioMérieux ref. 39400 / Hologic kat. č. 103100i)

Sonikátor Hologic

(bioMérieux ref. 39409 / Hologic kat. č. 901104)

Kit činidel ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION

(bioMérieux ref. 39305 / Hologic kat. č. 102800)

Kit činidel HOLOGIC DETECTION (1200 testů)

(bioMérieux ref. 39300 / Hologic kat. č. 201791)

Lázeň se suchým teplem (60 ± 1 °C)

(bioMérieux ref. 39406)

Lázeň se suchým teplem (95 ± 1 °C)

(bioMérieux ref. 39407)

Lázeň se suchým teplem Twin (60/95 ± 1 °C)

(bioMérieux ref. 39408)

Držák sonikátoru Hologic

(bioMérieux ref. 39313 / Hologic kat. č. 104027)

POSTUP TESTU

A. PŘÍPRAVA VYBAVENÍ

1. Pro optimální přenos zvukové energie se musí voda pečlivě zbavit plynů následujícím postupem:
 - a. Přidejte dostatečné množství horké vody, aby se lázeň sonikátoru naplnila asi ½ palce pod horní okraj nádoby.
 - b. Nechte sonikátor běžet 15 minut aby se z vody úplně odstranily plyny.
2. Upravte teplotu jednoho vyhřívacího bloku nebo vodní lázně na 60 ± 1 °C a teplotu druhého vyhřívacího bloku nebo vodní lázně na 95 ± 5 °C.
3. Připravte k činnosti luminometr Hologic Leader. Ujistěte se, že je k dispozici dostatečný objem detekčních činidel I a II k dokončení testů.

B. KONTROLY

Positivní a negativní kontrolní kmeny se musí rutinně testovat v každé laboratoři v souladu s místními předpisy. Jako pozitivní kontrolu lze použít kulturu *M. avium* (např. American Type Culture Collection, ATCC č. 25291) nebo *M. intracellulare* (např. ATCC č. 13950) a jako negativní kontrolu lze použít kulturu *Mycobacterium tuberculosis* (např. ATCC č. 25177).

C. PŘÍPRAVA VZORKU

1. Označte dostatečný počet zkumavek s lyzujícím činidlem pro testování izolátů kultury a/nebo kontrol. Sejměte víčka a uschovejte je.
2. Napipetujte 100 µl činidla 1 (lyzující činidlo) a 100 µl činidla 2 (hybridizační pufr) do všech zkumavek s lyzujícím činidlem. **Pokud se mají testovat bujónové kultury, nepřidávejte do zkumavek s lyzujícím činidlem činidlo 1.**

3. Přeneste vzorek z pevného média nebo 100 μ l dobře promíchané bujónové kultury do označených zkumavek s lyzujícím činidlem, jak je popsáno v části ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU. Pokud testujete růst na pevném médiu, ponořte kličku nebo jehlu do směsi rozpouštědel činidla 1 a činidla 2, aby se z ní odstranily buňky.
4. Opět přikryjte zkumavky s lyzujícím činidlem víčkem a krátce je promíchejte mísidlem typu Vortex.

D. LÝZA VZORKU

1. Zatlačte zkumavky s lyzujícím činidlem do držáku sonikátoru tak, aby reakční směs na dně zkumavky byla ponořena, ale víčka byly nad vodou. Umístěte držák sonikátoru do vodní lázně sonikátoru. **DEJTE POZOR, ABY SE ZKUMAVKY NEDOTÝKALY DNA NEBO STĚN SONIKÁTORU.**
2. Podrobte působení ultrazvuku po dobu 15 minut.
3. Umístěte zkumavky s lyzujícím činidlem, obsahující organismy podrobené působení ultrazvuku do zahřívacího bloku nebo vodní lázně po dobu 10 minut při teplotě 95 ± 5 °C.
4. Opatrně vyjměte zkumavky s lyzujícím činidlem ze zahřívacího bloku nebo vodní lázně.

E. HYBRIDIZACE

1. Otevřete pouzdro z folie rozříznutím horní části pouzdra. Vyjměte dostatečné množství zkumavek s činidlem pro sondu pro testování izolátů kultury a/nebo kontrol. Uzavřete pouzdro několikerým přehnutím otevřeného konce a zabezpečte jej přílnavou páskou nebo svorkou. **V pouzdře ponechte desikant.**
2. Označte dostatečný počet zkumavek s činidlem pro sondu pro testování izolátů kultury a/nebo kontrol. Sejměte víčka a uschovejte je.
3. Pipetujte 100 μ l lyzovaných vzorků ze zkumavek s lyzujícím činidlem do příslušných zkumavek s činidlem pro sondu.
4. Zkumavky s činidlem pro sondu opět uzavřete a inkubujte je ve vodní lázni nebo zahřívacím bloku po dobu 15 minut při teplotě 60 ± 1 °C.

F. SELEKCE

1. Vyjměte zkumavky s činidlem pro sondu z vodní lázně nebo zahřívacího bloku. Sejměte víčka a uschovejte je. Do každé zkumavky napipetujte 300 μ l činidla 3 (selekční činidlo). Zkumavky opět uzavřete a jejich obsah úplně promíchejte mísidlem typu Vortex.
2. Inkubujte zkumavky s činidlem pro sondu po dobu 5 minut při teplotě 60 ± 1 °C ve vodní lázni nebo zahřívacím bloku.
3. Vyjměte zkumavky s činidlem pro sondu z vodní lázně nebo zahřívacího bloku a ponechte je při teplotě místnosti po dobu alespoň 5 minut. Sejměte víčka a odložte je. **Během 1 hodiny od vyjmutí z vodní lázně nebo zahřívacího bloku odečtete výsledky v luminometru.**

G. DETEKCE

1. Z menu obsaženého v software luminometru zvolte vhodný protokol.
2. Navlhčenou tkaninou nebo papírovým kapesníčkem utřete každou zkumavku, aby se zajistilo, že na jejím povrchu není přítomno žádné reziduum a vložte zkumavku do luminometru podle pokynů dodávaných s přístrojem.
3. Po dokončení analýzy vyjměte zkumavku (zkumavky) z luminometru.

POZNÁMKY K POSTUPU

- A. ČINIDLA: Činidlo 2 (hybridizační pufr) se může vysrážet. Zahříváním a promícháváním roztoku při teplotě 35 - 60 °C se sraženina rozpustí.
- B. TEPLOTA: Hybridizační a selekční reakce jsou závislé na teplotě. Proto je důležité udržovat teplotu vodní lázně nebo zahřívacího bloku ve vymezeném rozmezí.
- C. DOBA: Hybridizační a selekční reakce jsou závislé na čase. Hybridizujte alespoň 15 minut, ne však déle než 20 minut. Inkubujte zkumavky s činidlem pro sondu během kroku SELEKCE alespoň 5 minut, ne však déle než 6 minut.
- D. VODNÍ LÁZEŇ: Hladinu vody ve vodní lázni je nutno udržovat tak vysoko, aby zkumavky s lyzujícím činidlem byly ponořeny do úrovně kroužku pro víčko, nikoli nad něj. Rovněž je nutno zajistit, aby objem vlastního reakčního činidla ve zkumavkách s činidlem pro sondu byl ponořen.
- E. MÍCHÁNÍ: během kroků PŘÍPRAVY VZORKU a SELEKCE má zásadní význam udržovat směs homogenní, zejména po přidání buněk do činidel 1 a 2 a po přidání činidla 3.

F. ODSTRAŇOVÁNÍ PORUCH:

1. Zvýšené hodnoty negativní kontroly (M tuberculosis ATCC č. 25177) vyšší než 10 000 RLU (Relative Light Units) v Leader nebo 300 PLU (Photometric Light Units) v AccuLDR (dříve PAL) mohou být způsobeny nedostatečným mícháním po přidání činidla 3 (selekční činidlo) nebo testováním smíšených kultur. Protože se mohou vyskytnout smíšené kultury, je třeba část vyrostlé kultury naočkovat na vhodné agarové médium a inkubovat, aby se provedla kontrola čistoty kolonií.
2. Nízké hodnoty pozitivní kontroly (M. avium ATCC č. 25291 nebo Mycobacterium intracellulare ATCC č. 13950) nižší než 30,000 RLU v Leader nebo 900 PLU v AccuLDR (dříve PAL) mohou být způsobeny nedostatečným

množstvím buněk, nedostatečnou sonikací nebo starými kulturami. Protože se mohou vyskytnout smíšené kultury, je třeba část vyrostlé kultury naočkovat na vhodné agarové médium a inkubovat, aby se provedla kontrola čistoty kolonií.

VÝSLEDKY

A. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledky ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST jsou založeny na následujících kritických hodnotách. Vzorky vytvářející signál větší nebo rovný těmto kritickým hodnotám se považují za pozitivní. Vzorky vytvářející signál nižší než kritické hodnoty se považují za negativní. Výsledky v rozmezí, ve kterém je třeba zkoušku provést znovu, je třeba opakovat. Pokud i opakované testování poskytuje neurčité výsledky, je třeba izolát subkultivovat, aby se ověřila jeho čistota.

	AccuLDR (dříve PAL)	Leader
Kritická hodnota	900 PLU	30 000 RLU
Rozmezí pro opakování	600 - 899 PLU	20 000-29 999 RLU

B. KONTROLA KVALITY A PŘIJATELNOST VÝSLEDKU

Negativní kontrola (např. *M. tuberculosis*, ATCC č. 25177) a pozitivní kontrola (např. *M. avium*, ATCC č. 25291), ať již z bujónu nebo z pevného média, musí mít následující hodnoty:

	AccuLDR (dříve PAL)	Leader
Negativní kontrola	< 300 PLU	< 10 000 RLU
Pozitivní kontrola	> 900 PLU	> 30 000 RLU

Pokud nejsou hodnoty pozitivní kontroly nebo negativní kontroly v požadovaném rozmezí, nelze výsledky hlásit.

OMEZENÍ METODY

Tato metoda byla testována na kulturách čerstvě vyrostlých na pevném médiu a v bujónu uvedených v části ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU. Tento test nebyl použit přímo na klinických vzorcích (např. moč, stolice nebo vzorky z dýchacích cest).

Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST nerozlišuje jednotlivé členy *M. avium* komplex. Izoláty obou druhů je nutno identifikovat jako *M. avium* komplex.

Existuje malé množství biochemicky určených izolátů *M. avium* komplex, které nelze sérologickými metodami nebo HPLC spolehlivě určit jako *M. avium* nebo *M. intracellulare*. Některé z těchto kmenů rovněž nelze detekovat pomocí testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Přesný taxonomický status těchto kmenů je v současnosti nejasný. Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST identifikuje kmeny *M. avium* komplex, které patří do tohoto komplexu na základě postupů tradičních biochemických metod HPLC nebo GLC. Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST může detekovat neobvyklé kmeny *M. avium* komplex, jejichž klinický význam nebyl zjištěn. Výsledky z testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST je třeba interpretovat ve spojení s jinými dostupnými laboratorními a klinickými údaji, které má klinik k dispozici.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST byl porovnáván se standardními kultivačními biochemickými identifikačními metodami na třech pracovištích. Pracovištěm 1 byla firma Hologic Incorporated, pracovišti 2 a 3 byly referenční laboratoře. Bylo testováno 717 izolátů *Mycobacterium avium* komplex (51 *M. avium*, 42 *M. intracellulare* a 624 *M. avium* komplex) 235 izolátů 22 jiných druhů *mykobakterií*. Izoláty se kategorizovaly jako buď pozitivní (> 30 000 RLU) nebo negativní (< 30 000 RLU). Rozmezí hodnot u negativních kultur bylo 1 353 až 14 675 RLU a u pozitivních kultur 30 829 až 2 742 691 RLU. Porovnání těchto výsledků se standardními kultivačními identifikačními metodami je uvedeno dále.

AccuProbe Kultivace	ACCUPROBE / STANDARDNÍ BIOCHEMICKÉ POSTUPY					
	Poz Poz	Poz Neg	Neg Poz	Neg Neg	Citlivost / Specificita	Procento Shoda
Místo 1	44	0	0	47	100 %/100 %	100 %
Místo 2	146	0	1	102	99,3 %/100 %	99,6 %
Místo 3	526	0	17	74	96,9 %/100 %	97,2 %
Celkem	716	0	18	223	97,6 %/100 %	98,1 %

Po rozlišení odlišných výsledků

ACCUPROBE / STANDARDNÍ BIOCHEMICKÉ POSTUPY

AccuProbe Kultivace	Poz	Poz Neg	Neg Poz	Neg Neg	Citlivost / Specificita	Procento Shoda
Místo 1	44	0	0	47	100 %/100 %	100 %
Místo 2	146	0	1	102	99,3 %/100 %	99,6 %
Místo 3	526	0	1	86	100 %/100 %	100 %
Celkem	716	0	2	235	99,9 %/100 %	99,9 %

Jeden vzorek s odlišnými výsledky v místě 2 (2416) byl analyzován CDC, Atlanta, Georgia a byl identifikován jako *M. avium* komplex analýzou HPLC. Vzor citlivosti na léčiva byl pro *M. avium* komplex netypický a stejně tak byly netypické i biochemické výsledky.

Na pracovišti 3 bylo 17 původních odlišných výsledků. Dva z nich (7755, 5113) byly chybně identifikovány a byly nově identifikovány pomocí HPLC a GLC jako *M. nonchromogenicum*. Tři kultury byly ze studie vyloučeny, protože dvě byly smíšené (4750, 8168) a jedna kultura nebyla životaschopná (0601). Další dvě byly ze studie vyloučeny, protože je nebylo možno s jistotou identifikovat jako náležející do MAC: 2344 a 5124 jsou identifikovány jako "nejvíce podobné MAC." Výsledky HPLC u sedmi zbývajících odlišných výsledků byly získány od CDC, Atlanta, Georgia. Kmeny PE09 a 6458 byly identifikovány jako *M. xenopi* 2, zatímco 9714 a 8310 byly identifikovány jako *M. terrae* komplex. Odlišné výsledky 1264 a 3634 byly identifikovány jako *M. scrofulaceum* pomocí CDC založené na vzorech HPLC. Kmen 1264 ukázal vzor SC007 zatímco kmen 3634 ukázal vzor EM002.

Kmen 0214 byl identifikován jako *M. simiae*, zatímco 8153 byl potvrzen jako MAIS HPLC vzorek EM005. Izoláty 2888 a 2971 byly identifikovány jako "neidentifikovaný skotochromogen." Příslušníci *M. avium* komplex nejsou skotochromogenní.

Po rozlišení je tedy celková citlivost 99,9 %, specificita 100 %, a procento shody je 99,9 %.

V samostatném hodnocení 148 neobvyklých kmenů MAC poskytnutých referenčním laboratorům z důvodu obtíží při identifikaci reagovalo 120 se sondou *M. avium* komplex pozitivně. 28 kmenů poskytlo se sondou negativní výsledek. Tyto izoláty dále studuje CDC. Taxonomický statut neobvyklých kmenů *M. avium* komplex je rovněž studován Mezinárodní pracovní skupinou pro taxonomii mykobakterií (International Working Group in Mycobacterial Taxonomy).

CHARAKTERISTIKY STANOVENÍ

A. PŘESNOST UVNITŘ BĚHU

Přesnost uvnitř běhu testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE

IDENTIFICATION TEST byla vypočtena zkoušením dvou koncentrací ribosomální RNA izolované z *M. avium*, *M. intracellulare* nebo non-*M. avium*, non-*M. intracellulare* *M. avium* komplex s použitím 12 replikátů v jedné zkoušce.

Vzorek	<i>Mycobacterium avium</i>	
	A	B
Počet replikátů	12	12
Střední hodnota odpovědi	67 574	112 246
Standardní odchylka	2 900	3 429
Koeficient variace	4,3 %	3,1 %

Vzorek	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	
	A	B
Počet replikátů	12	12
Střední hodnota odpovědi	61 758	100 736
Standardní odchylka	3 941	3 275
Koeficient variace	6,4 %	3,3 %

Vzorek	<i>M. avium</i> komplex	
	A	B
Počet replikátů	12	12
Střední hodnota odpovědi	64 148	113 049
Standardní odchylka	3 384	3 249
Koeficient variace	5,3 %	2,9 %

B. PŘESNOST MEZI BĚHY

Přesnost mezi běhy byla vypočtena zkoušením stejných dvou koncentrací ribosomální RNA izolované z *M. avium*, *M. intracellulare* non-*M. avium*, non-*M. intracellulare* *M. avium* komplex s použitím jednoho stanovení v 10 po sobě jdoucích bězích.

Vzorek	<i>Mycobacterium avium</i>	
	A	B
Počet replikátů	10	10
Střední hodnota odpovědi	65 790	125 506
Standardní odchylka	4 535	9 115
Koeficient variace	6,9 %	7,3 %

Vzorek	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	
	A	B
Počet replikátů	10	10
Střední hodnota odpovědi	60 175	104 203
Standardní odchylka	6 339	9 239
Koeficient variace	10,5 %	8,9 %

Vzorek	<i>M. avium</i> complex	
	A	B
Počet replikátů	10	10
Střední hodnota odpovědi	64 187	111 197
Standardní odchylka	4 659	10 011
Koeficient variace	7,3 %	9,0 %

C. SPECIFICITA

Bylo hodnoceno celkem 122 izolátů ATCC kultur s použitím ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Tyto izoláty představovaly celkem 93 druhů 37 rodů. Použitím testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST byly hodnoceny tři izoláty *M. avium* komplex, 60 izolátů 55 jiných druhů *mykobakterií* a 59 izolátů 36 jiných rodů představujících fylogeneticky zkřížené organismy. Pouze izoláty *M. avium* komplex poskytly v této studii pozitivní výsledky pomocí ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Jiné druhy *mykobakterií* a jiné fylogeneticky zkřížené druhy s tímto kitem nereagovaly.

D. ZÁCHYT

Ribosomální RNA *M. avium*, *M. intracellulare* a *M. avium* komplex v koncentracích v rozmezí od $2,5 \times 10^{-3}$ mg do $4,0 \times 10^{-2}$ mg na test se zkoušela v přítomnosti 15 milionů buněk buď *Mycobacterium terrae*, *M. simiae* nebo *Nocardia asteroides*. Nebyl pozorován žádný interferující signál vůči *M. avium* komplex a jiné přítomné organismy nereagovaly v testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST.



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



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Na tento výrobek se může vztahovat jeden nebo více patentů Spojených Států, které jsou uvedeny na webové stránce www.hologic.com/patents.

102902F-01-CS Rev. 003
©1990 - 2018 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.
2018-03