

AccuProbe®

MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST

CSAK EXPORT CÉLJÁRA
(bioMérieux ref. 39001 / Hologic kat. szám 102845)

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST egy gyors DNS szondateszt, amely a nukleinsav-hibridizációs technikát használja fel a tenyészetből izolált *Mycobacterium avium* (*M. avium* komplex) azonosítására.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MAGYARÁZAT

A *M. avium* komplex tagjai által okozott fertőzések az AIDS-hez és más immungyengített betegséghez társuló leggyakoribb mycobacteriális fertőzések (7, 15). A *M. avium* komplexnek, mint klinikailag jelentős kórokozónak az incidenciája a krónikus tüdőbetegségben szintén növekszik (8, 17). Újabban több laboratórium számolt be arról, hogy a *M. avium* komplexet ugyanolyan gyakran, vagy még nagyobb gyakorisággal izolálják, mint a *M. tuberculosis*-t (17). Nehezen lehet ezeket a fertőzéseket kezelni és a fertőzés súlyossága gyors diagnosztizálást kíván.

A *M. avium* komplex azokból a lassan növekvő mycobacteriumokból áll, amelyek kevés pigmentet termelnek, vagy nem termelnek pigmentet, nem hidrolizálják a TWEEN 80-at, vagy az ureát, nem redukálnak nitrátot, a szemikvantitatív kataláz-tesztben 45 mm-nél kevesebb habot produkálnak és pozitív nikotinamidáz- és pirazinamidáz-reakciót adnak. A komplexet általában két fajra osztják, a *M. avium*-ra és a *M. intracellulare*-ra (19). Fenotípusuk alapján ezek a mikroorganizmusok megkülönböztethetetlenek és a biokémiai tesztek képtelenek elkülöníteni őket.

A módszerek, amelyekkel egy izolátumot a *M. avium* komplex tagjaként leggyakrabban azonosítani szoktak: a tenyésztési és biokémiai eljárások, a szerotipizálás, a gáz-folyadék-kromatográfia, nagyteljesítményű folyadék-kromatográfia (HPLC) és az izotóppal jelölt DNS-szondák, amelyek a riboszómális RNS-sel reagálnak (Hologic Rapid Diagnostic System for the MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX) (1, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 16, 18). Továbbá, a *M. avium* komplex legtöbb törzsét a sejt felszíni antigénnel szembeni specifikus ellenanyagokat tartalmazó szérum adszorpciójával szerotipizálva, vagy *M. avium*-ként, vagy *M. intracellulare*-ként lehet azonosítani. Azonban, a T-katalázsal, a restrikciós fragmentum polimorfizmussal és a DNS-DNS hibridizációval kapcsolatban végzett újabb vizsgálatok azt mutatták, hogy néhány, korábban *M. intracellulare*-nak tartott szerovariáns valójában a *M. avium* fajhoz tartozik (1, 14, 21).

Azonban, kis számban vannak olyan biokémiailag meghatározott *M. avium* komplex izolátumok, amelyeket a fenti módszerek egyikével sem lehet megbízhatóan *M. avium*-ként vagy *M. intracellulare*-ként specifikálni. Az ilyen törzsek pontos taxonómiai státusza jelenleg bizonytalan. Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST-et a *M. avium*, a *M. intracellulare* és más, újabban a *M. avium* komplexhez tartozóként azonosított izolátum detektálásra terveztük. A módszer nem differenciál a komplexen belül a fajok között (20, 22, 23). A *M. avium* komplex ritka izolátumai esetleg nem adnak pozitív reakciót ebben a tesztben.

AZ ELJÁRÁS ELVE

A nukleinsav-hibridizációs teszt azon alapul, hogy a komplementer nukleinsav szálak specifikusan képesek egymáshoz illeszkedni és asszociálni, hogy stabilis kettős-szálú komplexeket képezzenek (4). Az AccuProbe rendszer a cél-mikroorganizmus riboszómális RNS-ével komplementer, kemilumineszcens jelöléssel ellátott, egyszálú DNS-szondát alkalmaz. Miután a riboszómális RNS szabaddá válik a mikroorganizmusból, a jelölt DNS-szonda egyesül a cél-mikroorganizmus riboszómális RNS-ével egy stabilis DNS-RNS hibridet alkotva. A szelektáló reagens lehetővé teszi a nem-hibridizált és a hibridizált szonda elkülönítését. A jelölt DNS-RNS hibridek mérése a Hologic luminométerével történik. Pozitív az eredmény, ha a luminométer-leolvasás megegyezik a cut-off értékkel, vagy nagyobb annál. Ezen cut-off alatti érték negatív eredményt jelent.

A REAGENSEK

Megjegyzés: A reagensekkel összefüggésbe hozható figyelmeztető és óvintézkedésre vonatkozó mondatokkal kapcsolatban lásd a Biztonsági adatlap könyvtárat (Safety Data Sheet Library) a www.hologic.com/sds lapon.

Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST reagenseit három külön reagenskitben szolgáltatjuk:

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX PROBE KIT

Szonda-reagens (P)	(4 x 5 cső)
<i>Mycobacterium avium</i> komplex.	
Lizáló csövek (LT)	(1 x 20 cső)
Üveggyöngyök és puffer.	

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT

Reagens 1 (lizáló-reagens) (1)	1 x 10 mL
0,04% nátrium-azidot tartalmazó pufferolt folyadék	
Reagens 2 (hibridizáló puffer) (2)	1 x 10 mL
pufferolt folyadék	
Reagens 3 (szelektáló reagens) (3)	1 x 60 mL
pufferolt folyadék	

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT

Detektáló reagens I (R1)	1 x 240 mL
0,1% hidrogén-peroxid 0,001 N salétromsavban	
Detektáló reagens II (RII)	1 x 240 mL
1 N nátrium-hidroxid	

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A. In vitro diagnosztikai felhasználásra.
- B. Általános óvintézkedéseket alkalmazzon, ha ezt a tesztet végzi (2).
- C. Csak tenyészetből izolált *M. avium* komplex azonosítására használja.
- D. Csak a szállított, vagy a specifikált egyszer használatos laboratóriumi árukat használja.
- E. A tenyészet kezelését és az eljárás minden lépését egészen a hőinaktiválási lépésig egy II. osztályú biológiai biztonsági kamrában végezze.
- F. Ennek a kitnek a reagensei nátrium-azidot tartalmaznak, amely az ólom vagy réz lefolyó-csővezetékkel reagálhat potenciálisan robbanó fém-azidokat képezve. Ezeknek a reagenseknek a kiöntésekor mindig hígítsa fel az anyagot nagy mennyiségű vízzel, hogy megakadályozza az azid-képződést a csővezetékben.
- G. Kerülje, hogy a Detektáló reagens I és II a szemébe kerüljön, a bőrével, vagy nyálka-hártyáival érintkezzen. Vízzel mossa le, ha ezekkel a reagensek érintkezett. Ha kiloccsannak ezek a reagensek, vízzel hígítsa meg mielőtt szárazra törli.

TÁROLÁS ÉS KEZELÉS

A Szonda-reagens csöveket fólia-tasakban 2°-8°C-on kell tárolni. A Szonda-reagens csövek a fel nem nyitott tasakban a megadott lejárati dátumig stabilisak. A felnyitása után a tasakot újra le kell zárni és a csöveket a lejárati dátum előtt 2 hónapon belül fel kell használni.

Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST-ben használt egyéb reagenseket 2°-25°C-on lehet tárolni és ezek stabilisak a megadott lejárati dátumig.

NE FAGYASSZA LE A REAGENSEKET.

A MINTA VÉTELE ÉS ELŐKÉSZÍTÉSE

Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST-et a tenyészetből izolált *M. avium* komplex azonosítására tervezték.

- A. **Szilárd táptalaj módszer.** A megfelelő szilárd táptalajokon, mint pl. Lowenstein-Jensen féle ferde agaron, vagy Middlebrook 7H10 vagy 7H11 lemezekon képződött, *M. avium* komplexre utaló növekedést lehet tesztelni. A minták tesztelhetők, amint a növekedés látható és az inkubálás következő 60 napja alatt.
 1. A növekedést egy 1 µL-es eldobható műanyag hurokkal, vagy egy eldobható műanyag tűvel lehet eltávolítani. Tampont ne használjon, mert a sejteket ezt követően kis térfogatú folyadékokban kell felfuszpendálni.
 2. Ügyeljen arra, hogy a sejtekkel együtt ne távolítson el szilárd táptalajt is.

3. A vizsgáló (operátor) ugyanekkor egy másik tenyésztő lemezt választhat inokulálásra, hogy az izolátum tisztaságát megerősítse.
- B. **Húsleves tenyésztő módszer.** Middlebrook 7H9 húslevesben bekövetkezett növekedést, amelynek turbiditása egy McFarland 1 nefelométer standarddal egyenértékű, vagy azt meghaladja, lehet az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST-tel vizsgálni. Pipettázzon 100 µL mintát a jól felkevert húsleves szuszpenzióból a Lizáló csőbe, amint az alább le van írva.

A MELLÉKELT ANYAGOK

Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST
bioMérieux ref. 39001 / Hologic kat. szám 102845

	20 teszt
Szonda-reagens (P)	4 x 5 cső
Lizáló cső (LT)	1 x 20 cső

SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ANYAGOK

1 µL-es műanyag steril inokuláló hurkok, fémhurkok, vagy műanyag tűk a telepek szelektálásához.

Kontroll tenyésztő törzsek

Vízfürdő vagy légtermosztát* (60°± 1°C)

Vízfürdő vagy légtermosztát* (95°± 5°C)

Mikropipetták (100 µL, 300 µL)

Ismétlő automata pipetta (100 µL, 300 µL)

Vortex keverő

McFarland 1 nefelométer standard

* A légtermosztátokban a fűtőblokkoknak olyan bemélyedéseik legyenek, amelyekben 12 x 75 mm-es csövek pontosan beleférnek. A Hologic légtermosztátok használatát ajánljuk.

AZ ÖN HOLOGIC ELOSZTÓJÁTÓL BESZEREZHETŐ

Hologic Leader 50i luminométer

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

Hologic szonikátor

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

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT

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

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT

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

Légtermosztát (60°± 1°C)

(bioMérieux ref. 39406)

Légtermosztát (95°± 1°C)

(bioMérieux ref. 39407)

Iker-légtermosztát (60°/ 95°± 1°C)

(bioMérieux ref. 39408)

Hologic Sonicator Rack (Hologic szonikátor állvány)

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

A TESZT VÉGREHAJTÁSA

A. A FELSZERELÉS ELŐKÉSZÍTÉSE

1. A hangenergia optimális átvitele érdekében a vizet alaposan gáztalanítani kell a következő eljárással:
 - a. Töltse meg elegendő forró vízzel a szonikátor fürdőt a tartály tetejétől számított kb. 1,3 cm-ig.
 - b. 15 percig működtesse a szonikátort, hogy alaposan gáztalanítsa a vizet.
2. Állítson be egy légtermosztátot, vagy vízfürdőt 60°± 1°C -ra és egy másik légtermosztátot, vagy vízfürdőt 95°± 5°C-ra.
3. Készítse elő a Hologic luminométert az üzemelésre. Győződjön meg arról, hogy elég Detektáló reagens I és II van a tesztek elvégzéséhez.

B. A KONTROLLOK

Pozitív és negatív kontroll törzseket kell tesztelni rutinszerűen minden egyes laboratóriumban a helyi rendelkezések szerint. Egy *Mycobacterium avium* tenyészetet (pl. az American Type Culture Collection, ATCC # 25291), vagy egy *Mycobacterium intracellulare* tenyészetet (pl. ATCC #13950) lehet pozitív kontrollként és egy *Mycobacterium tuberculosis* tenyészetet (pl. az ATCC # 25177) lehet negatív kontrollként használni.

C. MINTAELŐKÉSZÍTÉS

1. Címkézzzen fel elegendő számú Lizáló reagens csövet a tenyésztett izolátumok és/vagy kontrollok teszteléséhez. Vegye le és őrizze meg a kupakokat.
2. Pipetázzon 100 μ L Reagens 1-et (Lizáló reagens) és 100 μ L Reagens 2-t (hibridizáló puffer) valamennyi Lizáló reagens csőbe. **Ha húsleves tenyészeteket kell tesztelni, ne tegyen Reagens 1-et a Lizáló reagens csövekbe.**
3. Vigye át a mintát a szilárd táptalajról vagy 100 μ L-t egy jól felkevert húsleves tenyészetből a felcímkézett Lizáló reagens csövekbe, amint az A MINTA VÉTELE ÉS ELŐKÉSZÍTÉSE fejezetben le van írva. Pörgesse meg a hurkot, vagy a tüt a Reagens 1 és Reagens 2 hígító keverékben, hogy eltávolítsa a sejteket, ha szilárd táptalajról származó növekedést tesztel.
4. Tegye vissza a kupakokat a Lizáló reagens csövekre és röviden keverje fel vortex segítségével.

D. A MINTA LÍZISE

1. Tolja a Lizáló reagens csöveket a Szonikátor rekeszen át úgy, hogy a csövek alján lévő reakcióelegy belemerüljön a vízbe, de a kupakok a víz fölött legyenek. Helyezze a Szonikátor rekeszt a vízfürdő szonikátorra. **ÜGYELJEN, HOGY A CSÖVEK NE ÉRINTKEZZENEK A SZONIKÁTOR ALJÁVAL, VAGY OLDALAIVAL.**
2. Hangkezelje (szonikálja) 15 percig.
3. Tegye a szonikált mikroorganizmusokat tartalmazó Lizáló csöveket 10 percre egy $95^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ -os fűtő blokkba (légtermosztátba) vagy vízfürdőbe.
4. Óvatosan vegye le/ki a Lizáló reagens csöveket a fűtő blokkról vagy vízfürdőből.

E. HIBRIDIZÁLÁS

1. Nyissa fel a fólia tasakot egyenesen átvágva a tasak tetejét. Vegyen ki elegendő Szonda-reagens csövet a tenyésztett izolátumok és/vagy a kontrollok teszteléséhez. Zárja le újra a tasakot néhányszor ráhajtogatva a kinyitott szélét és ragasztószalaggal, vagy egy csiptetővel biztosítva. **A szárító párnát hagyja a tasakban.**
2. Címkézzzen fel elegendő számú Szonda-reagens csövet a tenyésztett izolátumok és/vagy a kontrollok teszteléséhez. Vegye le és őrizze meg a kupakokat.
3. Pipetázzon 100 μ L mintát a Lizáló reagens csövekből a megfelelő Szonda-reagens csövekbe.
4. Tegye vissza a kupakokat a Szonda-reagens csövekre és vízfürdőben vagy légtermosztátban inkubálja 15 percig $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ -on.

F. SZELEKTÁLÁS

1. Vegye ki a Szonda-reagens csöveket a vízfürdőből vagy a légtermosztátból. Vegye le és őrizze meg a kupakokat. Pipetázzon mindegyik csőbe 300 μ L Reagens 3-at (Szelektáló reagens). Tegye vissza a kupakokat a csövekre és vortex segítségével alaposan keverje fel.
2. Vízfürdőben, vagy légtermosztátban inkubálja a Szonda-reagens csöveket 5 percig $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ -on.
3. Vegye ki a Szonda-reagens csöveket a vízfürdőből vagy a légtermosztátból és hagyja szobahőmérsékleten legalább 5 percig. Vegye le és dobja el a kupakokat. **Egy órán belül olvassa le az eredményeket a luminométerben.**

G. DETEKTÁLÁS

1. A luminométer szoftver menüjéből válassza ki a megfelelő protokollt.
2. Nedves törlővel vagy papírzsebkendővel törölje meg mindegyik csövet, hogy ne legyen maradék a cső külső részén és tegye a csövet a luminométerbe a készülék utasításai szerint.
3. Amikor befejeződött az analízis, vegye ki a csöve(ke)t a luminométerből.

MEGJEGYZÉSEK A VIZSGÁLATHOZ

- A. REAGENSEK: A Reagens 2 (Hibridizáló puffer) kicsapódhat. 35° - 60°C -ra melegítve és kevergetve feloldódik a cspadék.
- B. HŐMÉRSÉKLET: A hibridizáló és a szelektáló reakció hőmérséklet-függő. Ezért kötelező, hogy a vízfürdő vagy a légtermosztát a megadott hőmérséklet-tartományon belül maradjon.
- C. IDŐ: A hibridizáló és a szelektáló reakció idő-függő. Legalább 15 percig, de ne tovább mint 20 percig hibridizáljon. A SZELEKTÁLÁS lépésben a Szonda-reagens csöveket legalább 5 percig, de ne tovább mint 6 percig inkubálja.
- D. VÍZFÜRDŐ: A vízfürdőben a víz szintjét úgy állítsa be, hogy a Lizáló reagens csövek a zárógyűrű szintjéig merüljenek a vízbe, de ne azon felül. Arról is gondoskodják, hogy a Szonda-reagens csövekben a folyékony reakcióelegy egész térfogata beemerüljön.

- E. VORTEX HASZNÁLATA: Döntően fontos, hogy homogén keveréke legyen a MINTAELŐKÉSZÍTÉS és a SZELEKTÁLÁS lépésekben, különösen miután hozzáadta a sejteket a Reagens 1- és 2-höz, valamint a Reagens 3 hozzáadása után.
- F. HIBAKERESÉS
1. 10.000 RLU (relatív fényegység)-t meghaladó megemelkedett negatív kontrollértékeket (M. tuberculosis ATCC #25177) a Leader luminométerben, vagy 300 PLU (fotométeres fényegység)-t meghaladó értékeket az AccuLDR (korábban PAL) luminométerben az okozhat, hogy nem keverte fel eléggé a Reagens 3 (Szelektáló reagens) hozzáadása után, vagy kevert tenyészeteket tesztel. Mivel kevert tenyészetek előfordulhatnak, a tenyészet egy részletét megfelelő agar táptalajra lehet széleszteni és inkubálni a többféle típusú telepek ellenőrzése céljából.
 2. 30.000 RLU-nál kisebb alacsony pozitív kontrollértékeket (M. avium ATCC #25291, vagy Mycobacterium intracellulare ATCC #13950) a Leader luminométerben, vagy 900 PLU-nál kisebb értékeket az AccuLDR (korábban PAL) luminométerben az okozhat, ha elégtelen a sejtszám, nem megfelelő a szonikálás, vagy kevert ill. előregedett tenyészeteket tesztel. Mivel kevert tenyészetek előfordulhatnak, a tenyészet egy részletét megfelelő agar táptalajra lehet széleszteni és inkubálni a többféle típusú telepek ellenőrzése céljából.

EREDMÉNYEK

A. AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE

Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST eredményeinek értelmezése a következő cut-off értékeken alapul. Azokat a mintákat, amelyek ezen cut-off értékekkel megegyező, vagy azoknál nagyobb jeleket produkálnak, pozitívnak tekintjük. Ezen cut-off értékeknél kisebb jeleket negatívnak tekintjük.

Az ismétlő tartományba eső eredményeket meg kell ismételni.

	AccuLDR (korábban PAL)	Leader
Cut-off érték	900 PLU	30.000 RLU
Ismétlő tartomány	600 – 899 PLU	20.000 – 29.999 RLU

B. MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS AZ EREDMÉNYEK ELFOGADHATÓSÁGA

A negatív kontroll (pl. *M. tuberculosis*, ATCC #25177) és a pozitív kontroll (pl. *M. avium*, ATCC #25291), akár húsleves tenyészetből, akár szilárd táptalajról, a következő értékeknek feleljen meg:

	AccuLDR (korábban PAL)	Leader
Negatív kontroll	< 300 PLU	< 10.000 RLU
Pozitív kontroll	> 900 PLU	> 30.000 RLU

Ha a pozitív kontroll-, vagy a negatív kontrollértékek nem a kívánt tartományba esnek, az eredményeket nem szabad jelenteni.

KORLÁTOZÁSOK

Ezt a módszert A MINTA VÉTELE ÉS ELŐKÉSZÍTÉSE fejezetben felsorolt szilárd táptalajokon és húslevesekben nőtt tenyészeteket használva fel teszteltük. Ennek a tesztnek a hatékonyságát közvetlen klinikai mintákon (pl. vizelet, széklet, vagy légúti minták) nem igazoltuk.

Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST nem differenciál a *M. avium* komplex tagjai között, mindkét faj izolátumait *M. avium* komplexként identifikálja.

Van néhány olyan biokémiailag meghatározott *M. avium* komplex izolátum, amelyet nem lehet szerológiai vagy HPLC módszerekkel *M. avium*-ként, vagy *M. intracellulare*-ként elkülöníteni. Ezen törzsek némelyikét esetleg az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST-tel sem lehet detektálni. Az ilyen törzsek pontos taxonómiai státusza jelenleg bizonytalan. Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST azokat a *M. avium* komplex törzseket azonosítja, amelyek a hagyományos biokémiai módszerekre, a HPLC vagy GLC eljárásokra alapozva tartoznak ehhez a komplexhez. Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST kimutathat olyan szokatlan *M. avium* komplex törzseket, amelyek klinikai jelentőségét még nem tisztázták eléggé.

Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST eredményeit a klinikus rendelkezésére álló egyéb laboratóriumi és klinikai adatokkal együtt értelmezze.

A VÁRHATÓ EREDMÉNYEK

Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST-et három vizsgáló helyen hasonlították össze a standard tenyésztési biokémiai azonosító módszerekkel. Az 1. sz. vizsgáló hely a Hologic laboratóriuma, a 2. és 3. sz. vizsgáló hely a referencia laboratórium volt. Hétszázötvenhét *M. avium* komplex izolátumot (51 *M. avium*, 42 *M. intracellulare* és 624 *M. avium* komplex) és 235 egyéb, 22 fajt képviselő, Mycobacterium törzset teszteltek. Az izolátumokat vagy pozitívként (≥ 30.000 RLU), vagy negatívként (< 30.000 RLU) kategorizálták. A negatív tenyészetek RLU-tartománya 1.353-tól 14.675 RLU-ig terjedt, a pozitív tenyészeteké 30.829-től 2.742.691 RLU-ig. Ezen eredmények összehasonlítását a standard azonosító módszerekkel kapott eredményekkel az alábbiakban foglaltuk össze.

ACCUPROBE / STANDARD BIOKÉMIAI ELJÁRÁSOK

AccuProbe Tenyésztés	Poz Poz	Poz Neg	Neg Poz	Neg Neg	Szenzitivitás/ Specifititás	Százalékos egyezés
1. hely	44	0	0	47	100%/100%	100%
2. hely	146	0	1	102	99,3%/100%	99,6%
3. hely	526	0	17	74	96,9%/100%	97,2%
Összesen	716	0	18	223	97,6%/100%	98,1%

Az eltérő minták újratesztelése után

ACCUPROBE / STANDARD BIOKÉMIAI ELJÁRÁSOK

AccuProbe Tenyésztés	Poz Poz	Poz Neg	Neg Poz	Neg Neg	Szenzitivitás/ Specifititás	Százalékos egyezés
1. hely	44	0	0	47	100%/100%	100%
2. hely	146	0	1	102	99,3%/100%	99,6%
3. hely	526	0	1	86	100%/100%	100%
Összesen	716	0	2	235	99,9%/100%	99,9%

Az egyik eltérő mintát a 2. vizsgáló helyen (2416) a CDC, Atlanta, Georgia vizsgálta és HPLC analízissel *M. avium* komplexként azonosította. Ennek a mikroorganizmusnak a gyógyszer-érékenysége szokatlan volt a *M. avium* komplexéhez képest és a biokémiai eredményei is atípusosak voltak.

A 3. vizsgáló helyen 17 eredetileg eltérő mintát találtak. Ezek közül kettőt (7755, 5113) tévesen identifikáltak és a HPLC-vel és GLC-vel történt újra-azonosítás során *M. nonchromogenicum*-nak azonosítottak. Három tenyészetet kizártak a tanulmányból, mert kettő kevert (4750, 8168) és egy már csíráképtelen volt (0601). Két további tenyészetet azért zártak ki a vizsgálatból, mert nem tudták róluk határozottan megállapítani, hogy a MAC-hoz tartoznak: a 2344-et és az 5124-et mint „a MAC-hoz nagyon hasonló“-t identifikáltak. A maradék 10 eltérő tenyészet közül hétnek a HPLC-eredményét a CDC, Atlanta, Georgia-ból kapták meg. A PE09 és 6458 törzset *M. xenopi* 2-ként, míg a 9714-et és a 8310-et mint *M. terrae* komplexet azonosították. Az ugyancsak eltérő 1264 és 3634 tenyészeteket a HPLC-mintázatuk alapján a CDC *M. scrofulaceum*-nak minősítette. A 1264 törzs SC007-es, míg a 3634 törzs EM002-es mintázatot mutatott.

A 0214 törzset *M. siniae*-ként azonosították, míg a 8153 törzset mint EM005 MAIS HPLC mintázatot erősítették meg. A 2888 és 2971 izolátumot „azonosítatlan scotochromogen“-nek minősítették. A *M. avium* komplex tagjai nem scotochromogének.

Így a végső értékelés után az általános szenzitivitás 99,9%-os, a specifititás 100%-os és százalékos egyezés 99,9%.

148 szokatlan MAC izolátum elkülönített értékelése során az azonosításban mutatkozott nehézségek miatt a referencia laboratóriumokra hivatkoztak, közülük 120 izolátum pozitív reakciót adott a *M. avium* komplex szondával, 28 izolátum negatív reakciót adott. Ezeket az izolátumokat a CDC tovább vizsgálja. A szokatlan *M. avium* komplex izolátumok taxonómiai státuszát a Mycobacterium taxonómiájával foglalkozó nemzetközi munkacsoport is áttekinti.

A TELJESÍTMÉNY JELLEMZŐI

A. FUTTATÁSON BELÜLI REPRODUKÁLHATÓSÁG

Az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST futtatáson belüli reprodukálhatóságát *M. avium*-ból, *M. intracellulare* vagy nem *M. avium*-ból, nem-*M. intracellulare* *M. avium* komplexből izolált riboszómális RNS két koncentrációját egyetlen assayben, 12 replikátban vizsgálva számítottuk ki.

<i>Mycobacterium avium</i>		
Minta	A	B
A replikátok száma	12	12
Átlagos válasz	67.574	112.246
Standard deviáció	2.900	3.429
Variációs koefficiens	4,3%	3,1%

<i>Mycobacterium intracellulare</i>		
Minta	A	B
A replikátok száma	12	12
Átlagos válasz	61.758	100.736
Standard deviáció	3.941	3.275
Variációs koefficiens	6,4%	3,3%

<i>M. avium</i> komplex		
Minta	A	B
A replikátok száma	12	12
Átlagos válasz	64.148	113.049
Standard deviáció	3.384	3.249
Variációs koefficiens	5,3%	2,9%

B. FUTTATÁSOK KÖZÖTTI REPRODUKÁLHATÓSÁG

A futtatások közötti reprodukálhatóságot ugyanazon két *M. avium*-, *M. intracellulare* nem *M. avium*-, nem-*M. intracellulare* *M. avium* komplex- riboszómális RNS-koncentrációt alkalmazva, 10 egymást követő futtatásban, egyes meghatározásokban mérve számítottuk ki.

<i>Mycobacterium avium</i>		
Minta	A	B
A replikátok száma	10	10
Átlagos válasz	65.790	125.506
Standard deviáció	4.535	9.115
Variációs koefficiens	6,9%	7,3%

<i>Mycobacterium intracellulare</i>		
Minta	A	B
A replikátok száma	10	10
Átlagos válasz	60.175	104.203
Standard deviáció	6.339	9.239
Variációs koefficiens	10,5%	8,9%

<i>M. avium</i> komplex		
Minta	A	B
A replikátok száma	10	10
Átlagos válasz	64.187	111.197
Standard deviáció	4.659	10.011
Variációs koefficiens	7,3%	9,0%

C. SPECIFICITÁS

Összesen 122 ATCC tenyésztési izolátumot értékeltünk az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST-et használva. Ezek az izolátumok összesen 93 fajt képviseltek 37 genus közül. A *M. avium* komplex 3 izolátuma, 55 egyéb *Mycobacterium* faj 60 izolátuma és 36 egyéb genus 59 izolátuma a ACCUPROBE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST-tel értékelt mikroorganizmusok filogenetikai keresztmetszetét képviselték. Csak a vizsgált *Mycobacterium avium* komplex izolátumok adtak pozitív eredményt az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST-et használva. Más *Mycobacterium* fajok és a filogenetikai keresztmetszetet képviselő izolátumok nem reagáltak ebben a tesztben.

D. VISSZANYERÉS

A *M. avium*, a *M. intracellulare* és a *M. avium* komplex riboszómális RNS-t, tesztenként $2,5 \times 10^{-3}$ mg-tól $4,0 \times 10^{-2}$ mg-ig terjedő koncentrációkban vizsgáltunk 15 millió *M. terrae*, *M. simiae* vagy *Nocardia asteroides* sejt jelenlétében. Nem volt interferencia a *M. avium*-jellel és a jelenlévő egyéb mikroorganizmusok nem reagáltak az ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST-tel.



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



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Ezt a terméket egy vagy több, a www.hologic.com/patents címen felsorolt
Egyesült Államok-beli szabadalom védheti.

102902F-01-HU Rev. 003
©1990 - 2018 Hologic, Inc. Minden jog fenntartva.
2018-03