

## Mycobacterium Avium Complex Culture Identification Test

(Hologic artikkelnummer 102845)

Kun for eksport.

### Beregnet bruk

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST er en hurtig DNA-probebasert test der en benytter nukleinsyrehybridiseringsteknikk for å identifisere *Mycobacterium avium* complex (*M. avium* complex) isolert fra kultur (dyrking).

### Sammendrag og beskrivelse av testen

Infeksjoner forårsaket av representanter for *M. avium*-komplekset er de mest vanlige mykobakterielle infeksjoner hos pasienter med AIDS og andre immunsupprimerte pasienter (7, 15). Forekomsten av lungesykdom der *M. avium*-komplekset blir identifisert som en signifikant patogen, øker også (8, 17). Flere laboratorier har i det siste rapportert at frekvensen av *M. avium*-kompleks-isolat nå er lik eller høyere enn frekvensen av *M. tuberculosis* (17). Behandlingen av disse infeksjonene er vanskelig, og graden av alvorlighet ved slik infeksjon krever rask diagnose.

*M. avium*-komplekset består av saktevoksende mykobakterier som produserer lite eller intet pigment, ikke hydrolyserer TWEEN 80 eller urea, ikke reduserer nitrat, produserer mindre enn 45 mm skum i den semi-kvantitative katalasetesten, og gir positiv reaksjon for nikotinamidase og pyrazinamidase. Komplekset inndeles vanligvis i to arter, *M. avium* og *M. intracellulare* (19). Fenotypisk er disse organismene nesten umulig å skille, og biokjemiske tester kan ikke differensiere mellom dem.

Metoder som vanligvis har vært brukt for å identifisere et isolat som tilhørende *M. avium*-komplekset omfatter dyrking og biokjemiske prosedyrer, serotyping, væssegasskromatografi (GLC), HPLC (high performance liquid chromatography), og isotopmerkede DNA prober som reagerer med ribosomalt RNA (Hologic Rapid Diagnostic System for the MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX)(1, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 16, 18). Enn videre, så kan de fleste stammer innen *M. avium*-komplekset identifiseres som enten *M. avium* eller *M. intracellulare* ved hjelp av serotyping med adsorberte sera som inneholder spesifikke antistoffer mot antigen på cellenes overflate. Imidlertid så har nylige studier av T-katalase, restriction fragment length polymorfismer, og DNA-DNA hybridisering vist at enkelte serovar som en tidligere antok var *M. intracellulare* faktisk tilhører arten *M. avium* (1, 14, 21).

Det finnes imidlertid et mindre antall biokjemisk bestemte *M. avium*-kompleks isolater som ikke kan artsbestemmes med sikkerhet som enten *M. avium* eller *M. intracellulare* ved hjelp av noen av de ovenfornevnte metodene. Per i dag er den eksakte taksonomiske status til slike stammer derfor usikker. ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST er laget for å kunne påvise *M. avium* og *M. intracellulare*, samt andre isolater som mer nylig har blitt identifisert som tilhørende *M. avium*-komplekset. Den differensierer imidlertid ikke mellom de enkelte artene innen komplekset (20, 22, 23). Sjeldne isolater av *M. avium*-komplekset kan tenkes å ikke gi positivt utslag med denne testen.

### Prinsipper som prosedyren bygger på

Tester som bygger på nukleinsyrehybridisering benytter seg av evnen komplementære nukleinsyretråder har til å spesifikt feste seg til hverandre slik at stabile dobbeltrådede komplekser dannes (4). AccuProbe system gjør bruk av en enkeltrådet kjemiluminescensmerket DNA-probe som er komplementær til målorganismens ribosomale RNA. Etter at ribosomalt RNA er frigjort fra organismen, vil den merkede DNA-proben bindes til målorganismens ribosomale RNA og danne et stabilt DNA:RNA-hybrid. En spesiell Selection Reagent gjør det mulig å skille mellom ikke-hybridiserte og hybridiserte prober. De merkede DNA:RNA-hybridene måles i et Hologic luminometer. En luminometer-måling lik eller større enn cut-off regnes som positivt resultat, mens verdier under cut-off er negative.

### Reagenser

**Merknad:** For informasjon om eventuelle fare- og sikkerhetssetninger som kan være forbundet med reagenser, se Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

Reagenser for bruk i ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST leveres i tre separate reagenskit:

**ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX PROBE KIT**

<b>Probe Reagent (P)</b> <i>Mycobacterium avium</i> complex	(4 x 5 rør)
<b>Lysing Tubes (LT)</b> Glasskuler og buffer.	(1 x 20 rør)

**ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT**

<b>Reagent 1</b> (Lysis Reagent) (1) bufret løsning inneholdende 0,04 % natriumazid.	1 x 10 ml
<b>Reagent 2</b> (Hybridization Buffer) (2) bufret løsning.	1 x 10 ml
<b>Reagent 3</b> (Selection Reagent) (3) bufret løsning.	1 x 60 ml

**HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT**

<b>Detection Reagent I</b> (RI) 0,1 % hydrogenperoksid i 0,001 N salpetersyre.	1 x 240 ml
<b>Detection Reagent II</b> (RII) 1 N natriumhydroksid.	1 x 240 ml

**Advarsler og forholdsregler**

- Kun for *in vitro* diagnostisk bruk.
- Følg allment aksepterte forholdsregler under utføring av dette assayet (2).
- Kun for bruk til identifisering av *M. avium* complex isolert fra kultur (dyrking).
- Benytt bare utstyr som medfølger eller engangsutstyr spesifisert i dette dokumentet.
- Håndtering av dyrkningskulturer og alle prosedyretrinn til og med varmeinaktiveringstrinnet, skal utføres i et sikkerhetskabinett (Biologisk sikkerhetskabinett klasse II).
- Reagenser i dette kitet inneholder natriumazid, som kan reagere med bly- eller kopperrør og utvikle potensielt eksplosive metallazider. Når disse reagensene avhendes, må stoffet alltid fortynnes med store mengder vann for å hindre utvikling av azid i rørsystemene.
- Unngå at Detection Reagent I og Detection Reagent II kommer i kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Dersom en får disse reagensene på seg må det vaskes bort med vann. Ved søl må en fortynne med vann før det tørkes opp.

**Hensyn ved lagring og håndtering**

Probe Reagent Tubes må lagres i folieposene ved 2 °C - 8 °C. Probe Reagent Tubes er stabile i uåpnede poser inntil den angitte utløpsdatoen. Etter at en pose har blitt åpnet bør den gjenforsegles, og rørene bør brukes innen to måneder, men innen utløpsdatoen.

Øvrige reagenser brukt i ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST kan lagres ved 2 °C - 25 °C, og vil da være stabile frem til den oppgitte utløpsdatoen.

**REAGENSENE MÅ IKKE FRYSES.****Prøvetaking og -klargjøring**

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST benyttes for å identifisere *Mycobacterium avium* complex isolert fra kultur (dyrking).

- Faste medier.** Kultur dyrket frem på fast medium, for eksempel Löwenstein-Jensen skråagar eller Middlebrook 7H10 eller 7H11 skåler, som viser tegn på *M. avium* complex skal testes. Testen kan utføres så snart vekst vises, og i løpet av den 60 dager lange inkubasjonstiden.
  - Koloniene plukkes med en 1 µl engangssøse, en podenål ("wire loop") eller tilsvarende. Fordi cellene etterpå skal resuspenderes i et mindre væskevolum, bør en ikke bruke prøvetakingspinner.
  - Unngå å få med noe av det faste mediet.
  - Man kan på dette stadiet velge å rendyrke isolatet for å kontrollere at man benytter renkultur.

- B. **Flytende medier.** Vekst i Middlebrook 7H9 buljong med turbiditet er lik eller høyere enn 1 McFarland (McFarland 1 Nephelometer Standard), kan testes med ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Pipetter 100 µl fra den godt blandede buljong suspensjonen til Lysing Reagent Tube som beskrevet nedenfor.

## Materialer som medfølger

The ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST  
Hologic artikkelnummer 102845

	<b>20 tester</b>
Probe Reagent (P)	4 x 5 rør
Lysing Tubes (LT)	1 x 20 rør

## Materialer og utstyr som ikke medfølger

- 1 µl sterile engangsøser, podenåler ("wire loop"), eller tilsvarende for å plukke kolonier.
- Kontrollstammer (referansestammer)
- Vannbad eller tørrvarmebad\* (60 °C ± 1 °C)
- Vannbad eller tørrvarmebad\* (95 °C ± 5 °C)
- Mikropipetter (100 µl, 300 µl)
- Repeate pipettor (100 µl, 300 µl)
- Vortex mixer
- McFarland 1 Nephelometer Standard

\* Varmebløkkene i tørrvarmebadet (Dry Heat Bath) må ha brønner som passer for 12 x 75 mm rør.  
Hologic Dry Heat Bath anbefales.

## Utstyr tilgjengelig hos Hologic distributøren

Hologic Leader 50i Luminometer  
(Hologic artikkelnummer 103100i)

Hologic Ultrasonic Water Bath  
(Hologic artikkelnummer 901104)

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT  
(Hologic artikkelnummer 102800)

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT (1200 tests)  
(Hologic artikkelnummer 201791)

Dry Heat Bath (60 °C ± 1 °C)

Dry Heat Bath (95 °C ± 1 °C)

Dry Heat Bath (60 °C/95 °C ± 1 °C)

Hologic Ultrasonic Water Bath Rack  
(Hologic artikkelnummer 104027)

## Testprosedyre

### A. KLARGJØRING AV UTSTYR

1. For optimal overføring av ultralyd (sonic energy), må vannet ha vært grundig avgasset ved bruk av følgende prosedyre:
  - a. Tilsett nok vann slik at ultralydbadet fylles opp til 1,3 cm (1/2 inch) fra toppen av beholderen.
  - b. Soniker i 15 minutter slik at vannet avgasses grundig.
2. Still en varmeblokk eller et vannbad på 60 °C ± 1 °C, og en annen varmeblokk eller et annet vannbad på 95 °C ± 5 °C.
3. Klargjør Hologic luminometeret for bruk. Kontroller at det er tilstrekkelig mengde av Detection Reagent I og Detection Reagent II til å kunne fullføre testene.

## B. KONTROLLER

I hvert laboratorium bør positive and negative referansestammer rutinemessig testes i henhold til gjeldende bestemmelser. *M. avium*-kultur (f.eks. American Type Culture Collection, ATCC 25291) eller *M. intracellulare*-kultur (f.eks. ATCC 13950) kan benyttes som positiv kontroll, mens en *Mycobacterium tuberculosis* (f.eks. ATCC 25177) kan benyttes som negativ kontroll.

## C. KLARGJØRING AV PRØVER

1. Merk tilstrekkelig antall Lysing Reagent Tubes for testing av isolatene og/eller kontrollene. Fjern, men behold korkene.
2. Pipetter 100 µl Reagent 1 (Lysis Reagent) og 100 µl Reagent 2 (Hybridization Buffer) til alle Lysing Reagent Tubes. **Dersom det er kultur fra flytende medium som skal testes, skal ikke Reagent 1 tilsettes Lysing Reagent Tubes.**
3. Overfør materiale fra fast medium, eller 100 µl av godt blandet buljongkultur, til de merkede Lysing Reagent Tubes som beskrevet i avsnittet "Prøvetaking og –klargjøring". Ved testing av vekst fra fast medium, snurres øsen eller podenålen i de fortynnede blandingene av Reagent 1 og Reagent 2 for å løsrive celler.
4. Kork Lysing Reagent Tubes og vortex kort.

## D. LYSERING AV PRØVE

1. Senk rørene med Lysing Reagent Tubes ned i stativet (Ultrasonic Water Bath Rack) slik at væskeblandingen på bunnen av rørene holdes under-, mens korkene er over vannet. Senk stativet i ultralydbadet. RØRENE MÅ IKKE KOMME NÆR BUNNEN AV ULTRALYDBADET ELLER DETS SIDER.
2. Soniker i 15 minutter.
3. Sett Lysing Reagent Tubes, som inneholder de sonikerte organismene, i en varmeblokk eller et varmebad i 10 minutter ved 95 °C ± 5 °C.
4. Ta Lysing Reagent Tubes forsiktig ut av varmeblokken eller vannbadet.

## E. HYBRIDISERING

1. Åpne folieposen ved å skjære av toppen på posen. Ta ut tilstrekkelig antall Probe Reagent Tubes for å teste isolatene og/eller kontrollene. Lukk posen igjen ved å brette den åpnede enden flere ganger og bruk tape eller en klemme for å sikre lukkingen. **La tørremidlet forbli i posen.**
2. Merk et tilstrekkelig antall Probe Reagent Tubes for å kunne teste isolatene og/eller kontrollene. Fjern, men behold korkene.
3. Pipetter 100 µl lysert prøve fra Lysing Reagent Tubes til korresponderende Probe Reagent Tubes.
4. Kork Probe Reagent Tubes på nytt, og inkuber i 15 minutter ved 60 °C ± 1 °C i et vannbad eller på en varmeblokk.

## F. SELEKSJON

1. Fjern Probe Reagent Tubes fra vannbadet eller varmeblokken. Ta av, men behold korkene. Pipetter 300 µl Reagent 3 (Selection Reagent) til hvert rør. Sett korkene på rørene igjen og vortex for å blande godt.
2. Inkuber Probe Reagent Tubes i 5 minutter ved 60 °C ± 1 °C i et vannbad eller på en varmeblokk.
3. Ta Probe Reagent Tubes ut av vannbadet eller varmeblokken og la dem stå ved romtemperatur i minst 5 minutter. Ta av korkene og kast dem. **Les av resultatene innen en time ved bruk av luminometeret.**

## G. DETEKSJON

1. Velg riktig protokoll fra luminometer-softwarens meny.
2. Tørk utsiden av hvert rør ved hjelp av et fuktig papirhåndkle eller lignende, for å fjerne eventuelle urenheter, og sett rørene deretter inn i luminometeret slik det beskrives i instrumentmanualen.
3. Når analysen er fullført fjernes rørene fra luminometeret.

## Merknader til prosedyren

- A. REAGENSER: Reagent 2 (Hybridization Buffer) kan presipitere. Oppvarming og blanding av løsningen ved 35 °C - 60 °C vil løse opp det utfelte stoffet.

- B. TEMPERATUR: Hybridiserings- og seleksjonsreaksjonene er temperaturavhengige. Det er derfor helt nødvendig å holde temperaturen i vannbadet eller varmeblokken innenfor det spesifiserte området.
- C. TID: Hybridiserings- og seleksjonsreaksjonene er tidsavhengige. Hybridiser i minst 15 minutter, men ikke i mer enn 20 minutter. Inkuber Probe Reagent Tubes under SELEKSJON-trinnet i minst 5 minutter, men ikke i mer enn 6 minutter.
- D. VANNBAD: Væsknivået i vannbadet må holdes gjennom hele prosessen for å sikre at Lysing Reagent Tubes er senket opp til, men ikke over forseglingsringen. Det må også sikres at hele volumet av flytende reagens i Probe Reaction Tubes er under vann.
- E. VORTEX: Det er avgjørende at man har en homogen blanding under trinnene KLARGJØRING AV PRØVER og SELEKSJON, spesielt etter at celler er tilsatt Reagent 1 og 2, og etter tilsetning av Reagent 3.
- F. FEILSØKING
1. Forhøyede negative kontrollverdier (*M. tuberculosis*, ATCC 25177) på mer enn 10 000 RLU (Relative Light Units) med Leader luminometeret eller 300 PLU (Photometric Light Units) med AccuLDR (tidligere PAL) luminometeret, kan skyldes utilstrekkelig blanding etter tilsetning av Reagent 3 (Selection Reagent), eller at man har testet en blandingskultur. Fordi blandingskulturer forekommer, kan man gjøre et utstryk på et egnet medium, inkubere og deretter se etter flere kolonityper.
  2. Lave positive kontrollverdier (*M. avium*, ATCC 25291 eller *M. intracellulare* ATCC 13950) på mindre enn 30 000 RLU med Leader luminometeret eller 900 PLU med AccuLDR (tidligere PAL) luminometeret kan skyldes utilstrekkelig antall celler, uriktig sonikering, eller at en tester blandingskulturer eller gamle kulturer. Fordi blandingskulturer forekommer, kan man gjøre et utstryk på et egnet medium, inkubere og deretter se etter flere kolonityper.

## Resultater

### A. TOLKING AV RESULTATER

Tolking av ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST baseres på cut-off verdiene nedenfor. Prøver som gir signaler høyere eller lik disse cut-off verdiene regnes som positive. Signaler svakere enn disse cut-off verdiene regnes som negative. Resultater som ligger i området Repeat Range bør gjentas. Dersom de gjentatte resultatene fremdeles viser tvetydig resultat, bør isolatet subkultiveres for å bekrefte renheten.

	AccuLDR (tidligere PAL)	Leader
Cut-off verdi	900 PLU	30 000 RLU
Repeat Range	600 - 899 PLU	20 000 - 29 999 RLU

### B. KVALITETSKONTROLL OG RESULTATENES TROVERDIGHET

Negativ kontroll (f.eks. *M. tuberculosis*, ATCC 25177) og positiv kontroll (f.eks. *M. avium* ATCC 25291), enten de kommer fra buljong eller fast medium, skal holde følgende verdier:

	AccuLDR (tidligere PAL)	Leader
Negativ kontroll	< 300 PLU	< 10 000 RLU
Positiv kontroll	> 900 PLU	> 30 000 RLU

Dersom den positive eller negative kontrollverdien ikke faller innen angitt område, kan man ikke gi ut prøveresultater

## Begrensninger

Metoden har vært utprøvd på ferske kulturer fra faste medier, og fra buljongkulturer angitt i avsnittet "Prøvetaking og -klargjøring". Testens egnethet har ikke vært prøvet på direkte klinisk prøvemateriale (f.eks. urin, avføringsprøver eller respiratoriske prøver).

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST skiller ikke mellom bakterier i *M. avium* complex. Isolater av alle arter vil bli identifisert som *M. avium* complex.

Der finnes et mindre antall isolater som har vært identifisert som *M. avium*-komplekset ved hjelp av biokjemiske metoder, men som ikke kan differensieres ved hjelp av verken serologi eller HPLC-metoder

som enten *M. avium* eller *M. intracellulare*. Enkelte av disse stammene vil heller ikke kunne påvises ved hjelp av ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Den eksakte taksonomiske status til slike stammer er for tiden usikker. ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST kan identifisere *M. avium*-kompleks stammer tilhørende komplekset basert på tradisjonelle biokjemiske metoder, HPLC eller GLC (væske-gasskromatografi) prosedyrer. ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST kan påvise uvanlige stammer tilhørende *M. avium*-kompleks, hvis kliniske betydning ikke er godt kjent.

Resultater ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST bør tolkes og vurderes sammenheng med øvrige laboratorie- og kliniske funn som er tilgjengelig for klinikerer.

## Forventede verdier

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST ble på tre forskjellige lokaliteter sammenliknet med standardmetoder for dyrking og biokjemiske metoder med henblikk på identifikasjon. Lokalitet 1 var Hologic Incorporated; lokalitet 2 og 3 var referanselaboratorier. Syv hundrede og sytten (717) *M. avium* complex-isolater (51 *M. avium*, 42 *M. intracellulare*, og 624 *M. avium* complex) og 235 andre *Mycobacterium*-arter som representerte 22 arter ble testet. Isolatene ble kategorisert som enten positive ( $\geq 30\ 000$  RLU) eller negative ( $< 30\ 000$  RLU). Variasjonsbredden for negative kulturer var fra 1 353 til 14 675 RLU og den var 30 829 til 2 742 691 RLU for positive kulturer. En sammenlikning av disse resultatene med standardmetoder for identifisering er vist nedenfor.

### ACCUPROBE / Standard biokjemisk testprosedyre

AccuProbe Dyrkning	Pos Pos	Pos Neg	Neg Pos	Neg Neg	Sensitivitet/ Spesifisitet	Prosent overenstemmelse
Lokalitet 1	44	0	0	47	100 %/100 %	100 %
Lokalitet 2	146	0	1	102	99,3 %/100 %	99,6 %
Lokalitet 3	526	0	17	74	96,9 %/100 %	97,2 %
<b>Totalt</b>	<b>716</b>	<b>0</b>	<b>18</b>	<b>223</b>	<b>97,6 %/100 %</b>	<b>98,1 %</b>

Etter vurdering av avvikende resultater

### ACCUPROBE / Standard biokjemisk testprosedyre

AccuProbe Dyrkning	Pos Pos	Pos Neg	Neg Pos	Neg Neg	Sensitivitet/ Spesifisitet	Prosent overenstemmelse
Lokalitet 1	44	0	0	47	100 %/100 %	100 %
Lokalitet 2	146	0	1	102	99,3 %/100 %	99,6 %
Lokalitet 3	526	0	1	86	100 %/100 %	100 %
<b>Totalt</b>	<b>716</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>235</b>	<b>99,9 %/100 %</b>	<b>99,9 %</b>

Den ene avvikende prøven fra lokalitet 2 (2416) ble analysert av CDC, Atlanta, Georgia (USA) og ble identifisert som tilhørende *M. avium*-kompleks ved hjelp av HPLC. Medikament-følsomhetsmønsteret til denne organismen var uvanlig for et medlem av *M. avium*-kompleks, og de biokjemiske resultatene var også uvanlige.

Lokalitet 3 hadde opprinnelig 17 avvik. To av disse antatte avvikene (7755, 5113) var blitt feilidentifisert, og er blitt identifisert på nytt ved hjelp av HPLC og GLC som *M. nonchromogenicum*. Tre kulturer ble utelatt fra studien fordi to var blandede (4750, 8168), og en kultur var ikke lenger levedyktig (0601). To andre kulturer ble strøket fra studien fordi de ikke sikkert kunne bestemmes som tilhørende MAC: 2344 og 5124 ble identifisert som "nærmest lik MAC". HPLC-resultater for syv av de gjenværende avvikerne/avvikende stammene ble mottatt fra CDC, Atlanta, Georgia (USA). Stammene PE09 og 6458 ble identifisert som *M. xenopi* 2, mens 9714 og 8310 ble identifisert som *M. terrae*-kompleks. De avvikende stammene 1264 og 3634 ble identifisert som *M. scrofulaceum* av CDC basert på deres HPLC-mønster. Stamme 1264 viste mønster SC007 mens stamme 3634 viste mønster EM002.

Stamme 0214 ble identifisert som *M. simiae*, mens 8153 har blitt bekreftet å være MAIS HPLC- mønster EM005. Isolatene 2888 og 2971 ble karakterisert som "unidentified scotochromogen". Bakterier tilhørende *M. avium*-kompleks er ikke scotochromogene.

Således var den totale sensitiviteten 99,9 %, spesifisiteten er 100 %, og prosent samsvar er 99,9 %.

I en egen evaluering av 148 uvanlige MAC-isolater som ble sendt til referanselaboratorier på grunn av vansker med identifiseringen, reagerte 120 positivt ved bruk av *M. avium*-kompleks proben. Åttogtyve isolater ga negativt resultat ved bruk av denne proben. Disse isolatene blir studert videre av CDC. Den taksonomiske status til uvanlige *M. avium*-kompleks isolater blir også undersøkt av International Working Group in Mycobacterial Taxonomy.

## Ytelseskarakteristikk

### A. PREISISJON INNEN DEN ENKELTE KJØRING

Presisjon innen den enkelte kjøring ("intra-assay-presisjon") med ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST ble beregnet ved å teste to konsentrasjoner av ribosomalt RNA isolert fra *M. avium*, *M. intracellulare* eller non-*M. avium*, non-*M. intracellulare* *M. avium* complex med 12 replikater i hvert oppsett.

<b><i>Mycobacterium avium</i></b>		
<b>Prøve</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
Antall replikater	12	12
Gjennomsnittlig respons	67 574	112 246
Standardavvik	2 900	3 429
Variasjonskoeffisient	4,3 %	3,1 %
<b><i>Mycobacterium intracellulare</i></b>		
<b>Prøve</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
Antall replikater	12	12
Gjennomsnittlig respons	61 758	100 736
Standardavvik	3 941	3 275
Variasjonskoeffisient	6,4 %	3,3 %
<b><i>M. avium</i> complex</b>		
<b>Prøve</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
Antall replikater	12	12
Gjennomsnittlig respons	64 148	113 049
Standardavvik	3 384	3 249
Variasjonskoeffisient	5,3 %	2,9 %

### B. PREISISJON MELLOM ULIKE KJØRINGER

Presisjon fra en kjøring til en annen ("inter-assay-presisjon") ble beregnet ved å teste enkeltprøver av de to samme konsentrasjonene med ribosomalt RNA fra *M. avium*, *M. intracellulare* eller non-*M. avium*, non-*M. intracellulare* *M. avium* complex under 10 påfølgende kjøring.

<b><i>Mycobacterium avium</i></b>		
<b>Prøve</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
Antall replikater	10	10
Gjennomsnittlig respons	65 790	125 506
Standardavvik	4 535	9 115
Variasjonskoeffisient	6,9 %	7,3 %

***Mycobacterium intracellulare***

<b>Prøve</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
Antall replikater	10	10
Gjennomsnittlig respons	60 175	104 203
Standardavvik	6 339	9 239
Variasjonskoeffesient	10,5 %	8,9 %

***M. avium complex***

<b>Prøve</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
Antall replikater	10	10
Gjennomsnittlig respons	64 187	111 197
Standardavvik	4 659	10 011
Variasjonskoeffesient	7,3 %	9,0 %

**C. SPESIFISITET**

112 ATCC-isolater ble undersøkt med ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Disse isolatene representerte i alt 93 arter fra 37 slekter. Tre *M. avium*-complexisolater, 60 isolater av 55 andre *Mycobacterium*-arter, og 59 isolater fra 36 andre slekter som representerte fylogenetisk forskjellige organismer, ble evaluert ved hjelp av ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Kun *Mycobacterium avium*-complexisolatene ga positivt resultat med ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Andre *Mycobacterium*-arter, samt de andre fylogenetisk ulike artene, reagerte ikke når dette kitet ble benyttet.

**D. GJENKJENNELSE**

Ribosomalt RNA fra *M. avium*, *M. intracellulare*, og *M. avium complex* i konsentrasjoner varierende fra  $2,5 \times 10^{-3}$  µg til  $4,0 \times 10^{-2}$  µg pr. prøve ble testet i nærvær av 15 millioner celler fra enten *Mycobacterium terrae*, *M. simiae*, eller *Nocardia asteroides*. Det ble ikke observert noen interferens med *M. avium*-complexsignaler, og de andre tilstedeværende organismene reagerte ikke i ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST.

**Litteratur**

1. **Baess, I.** 1983. Deoxyribonucleic acid relationships between different serovars of *M. avium*, *M. avium* and *M. scrofulaceum*. ACTA Path. Microbiol. Scand. Sect. B. **91**:201-203.
2. **Center for Disease Control.** 1988. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. 37: 377-382, 387-388.
3. **Conville, P.S., J.F. Keiser og F.G. Witebsky.** 1989. Mycobacteremia caused by simultaneous infection with *M. avium* and *M. intracellulare* detected by analysis of a BACTEC 13A bottle with the Gen-Probe kit. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 12: 217-219.
4. **Drake, T. A., J.A. Hindler, O. G. W. Berlin og D. A. Bruckner.** 1987. Rapid identification of *M. avium* complex in culture using DNA probes. J. Clin. Microbiol. **25**:1442-1445.
5. **Ellner, P. D., T. E. Kiehn, R. Cammarata og M. Hosmer.** 1988. Rapid detection and identification of pathogenic mycobacteria by combining radiometric and nucleic acid probe methods. J. Clin. Microbiol. **26**:1349-1352.
6. **Gonzalez, R. og B.A. Hanna.** 1987. Evaluation of Gen-Probe DNA hybridization systems for the identification of *M. tuberculosis* and *M. avium-intracellulare*. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. **8**:69-77.
7. **Guthertz, L.S., B. Damsker, E.J. Bottone, E.G. Ford, T.F. Midura og J.M. Janda.** 1989. *M. avium* and *M. intracellulare* infections in patients with and without AIDS. J. Infect. Dis. 160: 1037-1041.
8. **Horowitz, E.A.** 1988. Recent trends in mycobacterial disease. Hosp. Formul. 23: 892-897.
9. **Kent, P. T. og G. P. Kubica.** 1985. Public Health Mycobacteriology: A guide for the level III laboratory, U. S. Department of Public Health and Human Services. Public Health Service. Centers for Disease Control, Atlanta,
10. **Kiehn, T. E. og F. F. Edwards.** 1987. Rapid identification using a specific DNA probe of *M. avium* complex from patients with acquired immunodeficiency syndrome. J. Clin. Microbiol. **25**:1551-1552.



11. **Kohne, D. E., A. G. Steigerwalt og D. J. Brenner.** 1984. Nucleic acid probe specific for members of the genus *Legionella*. p. 107-108. I C. Thornsberry, *et al.* (red.) *Legionella*: proceedings of the 2nd international symposium. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. **Musial, C. E., L. S. Tice, L. Stockman og G. D. Roberts.** 1988. Identification of Mycobacteria from culture by using the Gen-Probe rapid diagnostic system for *M. avium* complex and *M. tuberculosis* complex. *J. Clin. Microbiol.* **26**:2120-2123.
13. **Peterson, E.M., R. Lu, C. Floyd, A. Nakasone, G. Friedly og L.M. De La Maza.** 1989. Direct identification of *M. tuberculosis*, *M. avium* and *M. intracellulare* from amplified primary cultures in BACTEC media using DNA probes. *J. Clin. Microbiol.* **27**: 1543-1547.
14. **Picken, R.N., A.Y. Tsang og H.L. Yang.** 1988. Speciation of organisms within the *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum* (MAIS) complex based on restriction fragment length polymorphisms. *Mol. and Cell Probes.* **2**: 289-304.
15. **Pitchenik, A. E., D. Fertel og A. B. Bloch.** 1988. Mycobacterial disease: epidemiology, diagnosis, treatment and prevention. *Clin. Chest. Med.* **9**:425-441.
16. **Saito, H., H. Tomioka, K. Sato, H. Tasaka, M. Tsukamura, F. Kuze og K. Asano.** 1989. Identification and partial characterization of *M. avium* and *M. intracellulare* by using DNA probes. *J. Clin. Microbiol.* **27**:994-997.
17. **Saubolle, M.A.** 1989. Nontuberculosis mycobacteria as agents of human disease in the United States. *Clin. Microbio. News* **11**: 113-117.
18. **Sherman, I., N. Harrington, A. Rothrock og H. George.** 1989. Use of a cutoff range in Identifying mycobacteria by the Gen-Probe rapid diagnostic system. *J. Clin. Microbiol.* **27**: 241-244.
19. **Sommers, H. M. og R. C. Good.** 1985. M., p. 216-248. I E. H. Lennette, *et al.* (red.) *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C
20. **Wasen, C.F., C.M. McCarthy og L.W. Murray.** 1991. Multilocus enzyme electrophoresis analysis of the *M. avium* Complex and other Mycobacteria. *J. Clin. Microbiol.* **29**: 264-271.
21. **Wayne, L.G. og G.A. Diaz.** 1986. Differentiation between T-catalases derived from *M. avium* and *M. intracellulare* by a solid phase Immunosorbent assay. *Intl. J. of System Bact.* **36**: 363-367.
22. **Wayne, L.G., R.C. Good, M.I. Krichevsky, Z. Blacklock, H.L. David, D. Dawson, W. Gross, J. Hawkins, V. Vincent Levy-Frebault, C. McManus, F. Portaels, S. Rusch-Gerdes, K.H. Schroder, V.A. Silcox, M. Tsukamura, K. van den Breen og M.A. Yakrus.** 1991. Fourth report of the cooperative, open-ended study of slowly growing mycobacteria by the international working group on mycobacterial taxonomy. *Intl. J. of System Bact.* **41**: 463-472.
23. **Wayne, L.G. og H.A. Sramek.** 1992. Agents of newly recognized or infrequently encountered mycobacterial diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* **5**: 1-25.



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



**Hologic N.V.**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Dette produktet kan være dekket av ett eller flere patenter i USA, som identifiseres på [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 1990-2018 Hologic, Inc. Med enerett.  
102902F-01-NO Rev. 003  
2018-03