

AccuProbe®

MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST

LEN NA EXPORT
(bioMérieux ref. 39001 / Hologic Cat. No. 102845)

PREDPOKLADANÉ POUŽITIE

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST je rýchly test s DNA sondou využívajúci techniku hybridizácie nukleových kyselín na identifikáciu komplexu *Mycobacterium avium* (*M. avium* komplex) izolovaného z kultivácie.

SÚHRN A VYSVETLENIE TESTU

Infekcie spôsobené členmi komplexu *M. avium* sú najčastejšími mykobakteriálnymi infekciami spojenými s AIDS a vyskytujúcimi sa u iných pacientov s oslabenou imunitou (7, 15). Incidencia *M. avium* komplexu ako klinicky významného patogénneho organizmu v prípadoch chronického pľúcneho ochorenia taktiež narastá (8, 17). V poslednom čase viaceré laboratória hlásia, že výskyt izolovaného *M. avium* komplexu je rovnaký, alebo vyšší, ako výskyt izolovanej *M. tuberculosis* (17). Liečba týchto infekcií je zložitá a závažnosť týchto infekcií vyžaduje rýchlu diagnostiku.

M. avium komplex pozostáva z pomaly rastúcich mykobaktérií, ktoré produkujú málo alebo žiadny pigment, nehydrolyzujú TWEEN 80 ani močovinu, nedegradujú dusičnany, produkujú menej ako 45 mm peny pri semikvantitatívnom katalázovom teste a majú pozitívnu reakciu pre nikotínamidázu a pyrazínamidázu. Komplex sa obvykle skladá z dvoch druhov: *M. avium* a *M. intracellulare* (19). Fenotypicky sú *M. avium* a *M. intracellulare* takmer nerozlíšiteľné a ani biochemické testy nie sú schopné ich rozlíšiť.

Bežne používanými metódami na identifikáciu izolátov ako členov *M. avium* komplexu sú kultivačné a biochemické postupy, určenie sérotypu, plynová a kvapalinová chromatografia, kvapalinová chromatografia s vysokým rozlíšením (HPLC) a izotopmi značené sondy DNA, ktoré reagujú s ribozomálnou RNA (rýchly diagnostický systém Hologic na MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX) (1, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 16, 18). Navyše možno väčšinu kmeňov *M. avium* komplexu identifikovať buď ako *M. avium* alebo *M. intracellulare* pomocou sérotypizácie s adsorbovaným sérom obsahujúcim špecifické protilátky proti povrchovým bunkovým antigénom. Nedávne štúdie T-katalázy, polymorfizmov dĺžky reštrikčných fragmentov a DNA-DNA hybridizácie ukázali, že niektoré sérotypy kedysi považované za *M. intracellulare* v skutočnosti patria k druhu *M. avium* (1, 14, 21).

Existuje ale malé množstvo biochemicky určených izolátov *M. avium* komplexu, ktoré nemožno spoľahlivo určiť ako *M. avium* alebo *M. intracellulare* pomocou žiadnej z hore uvedených metód. Presný taxonomický status týchto kmeňov je v súčasnosti nejasný. ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST je určený na detekciu *M. avium*, *M. intracellulare* a iných izolátov nedávno identifikovaných ako patriacich k *M. avium* komplexu. Nerozlišuje medzi jednotlivými druhmi v rámci komplexu (20, 22, 23). Výnimočne nemusia izoláty *M. avium* komplexu poskytovať v tomto teste pozitívnu reakciu.

PRINCÍPY POSTUPU

Testy hybridizácie nukleových kyselín sú založené na schopnosti komplementárnych vlákien nukleových kyselín špecificky sa usporiadať a vytvárať stabilné dvojvláknové komplexy (4). Systém AccuProbe používa jednovláknovú sondu DNA s chemiluminiscenčným značením, ktorá je komplementárna k ribozomálnej RNA cieľového organizmu. Potom, ako sa ribozomálna RNA uvoľní z organizmu, spojí sa značená sonda DNA s ribozomálnou RNA cieľového organizmu a vytvorí sa stabilný DNA:RNA hybrid. Selektívne činidlo umožňuje rozlíšenie nehybridizovanej a hybridizovanej sondy. Značené hybridy DNA:RNA sa merajú v Hologic

luminometri. Pozitívny výsledok je, keď sa pomocou luminometra odčíta hodnota rovnaká alebo vyššia ako hraničná hodnota. Hodnota nižšia ako hraničná hodnota predstavuje negatívny výsledok.

ČINIDLÁ

Poznámka: Pre informácie o rizikových a bezpečnostných oznámeniach, ktoré môžu byť spojené s reagensmi, si pozrite databázu s kartami bezpečnostných údajov (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologic.com/sds.

Činidlá pre ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST sa dodávajú v troch samostatných súpravách:

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX PROBE KIT

Činidlo so sondou (P) <i>Mycobacterium avium</i> komplex.	(4 x 5 skúmaviek)
Lýzujúce skúmavky (LT) Sklenené guľôčky a tlmivý roztok.	(1 x 20 skúmaviek)

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT

Činidlo 1 (Lýzujúce činidlo) (1) tlmivý roztok obsahujúci 0,04 % azidu sodného	1 x 10 ml
Činidlo 2 (Hybridizačný tlmivý roztok) (2) tlmivý roztok	1 x 10 ml
Činidlo 3 (Selekčné činidlo) (3) tlmivý roztok	1 x 60 ml

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT

Detekčné činidlo I (RI) 0,1% peroxid vodíka v 0,001 N kyseline dusičnej	1 x 240 ml
Detekčné činidlo II (RII) 1 N hydroxid sodný	1 x 240 ml

UPOZORNENIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

- Na diagnostické použitie *in vitro*.
- Pri uskutočňovaní tohto testu zachovávajúte všeobecné bezpečnostné opatrenia (2).
- Používajte len na identifikáciu *M. avium* komplexu izolovaného z kultúry.
- Používajte len dodávané alebo predpísané jednorazové laboratórne pomôcky.
- Narábanie s kultúrami a všetky kroky postupu až po krok inaktívácie ohrievaním by sa mali vykonávať v laboratóriu s 2. stupňom biologickej bezpečnosti.
- Činidlá súpravy obsahujú azid sodný, ktorý môže reagovať s oloveným alebo medeným potrubím za vzniku výbušných azidov kovov. Pri likvidácii týchto činidiel, vždy rozriedte materiál s veľkým objemom vody, aby sa zabránilo hromadeniu azidu v potrubí.
- Vyhýbajte sa kontaktu pokožky, a slizníc s detekčným činidlom I a II. Ak tieto činidlá prídu do kontaktu s pokožkou, opláchnite ju vodou. Ak dôjde k rozliatiu týchto činidiel, rozriedte ich vodou pred utretím dosucha.

PODMIENKY SKLADOVANIA A ZAOBCHÁDZANIA

Skúmavky s činidlom so sondou sa musia skladovať vo fóliovom puzdre pri teplote 2 až 8 °C. Skúmavky s činidlom so sondou sú v uzatvorenom puzdre stabilné až do dátumu expirácie vyznačeného na obale. Po otvorení musí byť puzdro opätovne zatvorené a skúmavky by mali byť použité v priebehu dvoch mesiacov a pred dátumom expirácie.

Ďalšie činidlá použité v ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST môžu byť skladované pri teplote 2 až 25 °C, pričom sú stabilné až do uvedeného dátumu expirácie.

ČINIDLÁ NEZMRAZUJTE.

ODBER A PRÍPRAVA VZORKY

Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST je určený na identifikáciu *Mycobacterium avium* komplexu z kultúry.

A. **Metóda kultivácie na tuhom médiu.** Testovaný môže byť nárast pripomínajúci *M. avium* komplex na vhodnom tuhom médiu, ako sú Lowenstein-Jensenov šikmý agar alebo platne Middlebrook 7H10 alebo 7H11. Vzorky možno testovať, hneď ako je viditeľný nárast a počas nasledujúcich šesťdesiatich dní inkubácie.

1. Nárast môže byť odobratý 1 μ l jednorazovou plastovou kľučkou, drôtenou kľučkou alebo jednorazovou plastovou ihlou. Tampóny by sa nemali používať, pretože bunky sa následne resuspendujú v malom objeme kvapaliny.

2. Nenaberte s bunkami tuhé médium.

3. Pracovník sa môže rozhodnúť súčasne naočkovať inú kultivačnú platňu, aby sa potvrdila čistota izolátu.

B. **Metóda kultivácie v bujóne.** Pomocou testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST možno testovať rast v bujóne Middlebrook 7H9 s turbiditou rovnou alebo väčšou ako McFarland 1 nefelometrický štandard. Pipetujte 100 μ l vzorky z dobre premiešanej suspenzie bujónu do skúmavky s lýzujúcim činidlom, podľa dole uvedeného popisu.

DODÁVANÉ MATERIÁLY

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST

bioMérieux ref. 39001 / Hologic Cat. No. 102845

Činidlo so sondou (P)
Lýzujúce skúmavky (LT)

20 testov
4 x 5 skúmaviek
1 x 20 skúmaviek

POŽADOVANÉ ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

1 μ l plastové sterilné očkovacie kľučky, drôtené kľučky alebo plastové ihly na výber kolónií

Kontrolné kultivačné kmene

Vodný kúpeľ, alebo kúpeľ so suchým teplom* (60 ± 1 °C)

Vodný kúpeľ, alebo kúpeľ so suchým teplom * (95 ± 5 °C)

Mikropipety (100 μ l, 300 μ l)

re-pipetor (100 μ l, 300 μ l)

Vortexové miešadlo

McFarland 1 nefelometrický štandard

*Vyhrievacie telesá v kúpeli so suchým teplom musia mať jamky odpovedajúce veľkosťou skúmavkám s rozmermi 12 x 75 mm. Odporúča sa použitie Hologic kúpeľov so suchým teplom.

DOSTUPNÉ U VÁŠHO HOLOGIC DISTRIBÚTORA

Luminometer Hologic Leader 50i

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

Sonikátor Hologic

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

Súprava činidiel ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION

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

Súprava činidiel HOLOGIC DETECTION

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

Kúpeľ so suchým teplom (60 ± 1 °C)

(bioMérieux ref. 39406)

Kúpeľ so suchým teplom (95 ± 1 °C)

(bioMérieux ref. 39407)

Kúpeľ so suchým teplom Twin ($60/95 \pm 1$ °C)

(bioMérieux ref. 39408)

Stojan sonikátora Hologic

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

POSTUP TESTU

A. PRÍPRAVA VYBAVENIA

1. Pre optimálny prenos zvukovej energie sa musí voda starostlivo zbaviť plynov nasledujúcim postupom:
 - a. Pridajte dostatočné množstvo horúcej vody, aby sa kúpeľ sonikátora naplnil asi ½ palca pod vrch nádoby.
 - b. Nechajte sonikátor bežať 15 minút, aby sa z vody úplne odstránili plyny.
2. Upravte teplotu jedného vyhrievacieho telesa alebo vodného kúpeľa na 60 ± 1 °C a teplotu druhého vyhrievacieho telesa alebo vodného kúpeľa na 95 ± 5 °C.
3. Pripravte luminometer Hologic Leader k činnosti. Ubezpečte sa, či máte dostatočný objem detekčných činidiel I a II na dokončenie testov.

B. KONTROLY

Pozitívne a negatívne kontrolní kmene sa musia rutinne testovať v každom laboratóriu podľa miestnych predpisov. Ako pozitívna kontrola sa môže použiť kultúra *M. avium* (napr. American Type Culture Collection, ATCC č. 25291) alebo *M. intracellulare* (napr. ATCC č. 13950) a ako negatívna kontrola sa môže použiť kultúra *Mycobacterium tuberculosis* (napr. ATCC č. 25177).

C. PRÍPRAVA VZORKY

1. Označte dostatočný počet skúmaviek s lýzujúcim činidlom na testovanie izolátov kultúry a/alebo kontrol. Odstráňte viečka a odložte ich.
2. Napipetujte 100 µl činidla 1 (lýzujúce činidlo) a 100 µl činidla 2 (hybridizačný tlmivý roztok) do všetkých skúmaviek s lýzujúcim činidlom. **Ak sa majú testovať bujónové kultúry, nepridávajte do skúmaviek s lýzujúcim činidlom činidlo 1.**
3. Preneste vzorku z tuhého média alebo 100 µl dobre premiešanej bujónovej kultúry do označených skúmaviek s lýzujúcim činidlom, podľa popisu v časti ODBER A PRÍPRAVA VZORKY. Ak testujete nárast na tuhom médiu, zatočte kľučkou alebo ihlou v zmesi rozpúšťadiel činidla 1 a činidla 2, kvôli odstráneniu buniek.
4. Uzatvorte skúmavky s lýzujúcim činidlom a krátko premiešajte na vortexe.

D. LÝZA VZORKY

1. Zatláčajte skúmavky s lýzujúcim činidlom do stojana sonikátora tak, aby reakčná zmes na dne skúmavky bola ponorená, ale viečka boli nad vodou. Umiestnite stojan sonikátora do vodného kúpeľa sonikátora. **NEPRIPUSTITE, ABY SA SKÚMAVKY DOTÝKALI DNA ALEBO STIEN SONIKÁTORA.**
2. Pôsobte ultrazvukom po dobu 15 minút.
3. Umiestnite skúmavky s lýzujúcim činidlom, obsahujúce organizmy podrobené pôsobeniu ultrazvuku do vyhrievacieho telesa alebo do vodného kúpeľa na 10 minút pri teplote 95 ± 5 °C.
4. Opatrne vyberte skúmavky s lýzujúcim činidlom z vyhrievacieho telesa alebo z vodného kúpeľa.

E. HYBRIDIZÁCIA

1. Otvorte fóliové puzdro rovnomerným rozrezaním vrchu puzdra. Vyberte dostatočné množstvo skúmaviek s činidlom obsahujúcim sondu na testovanie izolátov kultúry a/alebo kontrol. Uzatvorte puzdro niekoľkonásobným zahnutím otvoreného okraja a zabezpečte príľnavou páskou alebo svorkou. **V puzdre nechajte vankúšik desikanta.**
2. Označte dostatočný počet skúmaviek s činidlom so sondou na testovanie izolátov kultúry a/alebo kontrol. Odstráňte a uchovajte viečka.
3. Pipetujte 100 µl lýzovaných vzoriek zo skúmaviek s lýzujúcim činidlom do príslušných skúmaviek s činidlom so sondou.
4. Uzatvorte skúmavky s činidlom so sondou a inkubujte ich vo vodnom kúpeli alebo vo vyhrievacom telese po dobu 15 minút pri teplote 60 ± 1 °C.

F. SELEKCIA

1. Vyberte skúmavky s činidlom so sondou z vodného kúpeľa alebo z vyhrievacieho telesa. Odstráňte a uchovajte viečka. Do každej skúmavky napipetujte 300 µl činidla 3 (selekčné činidlo). Skúmavky opätovne uzatvorte a premiešajte na vortexe, aby sa úplne premiešali.
2. Inkubujte skúmavky s činidlom so sondou po dobu 5 minút pri teplote 60 ± 1 °C vo vodnom kúpeli alebo vo vyhrievacom telese.

3. Vyberte skúmavky s čídlom so sondou z vodného kúpeľa alebo z vyhrievacieho telesa a nechajte ich pri izbovej teplote najmenej 5 minút. Odstráňte a zničte viečka. **Odčítajte výsledky v luminometri do 1 hodiny.**

G. DETEKCIA

1. Z menu v softwari luminometra si vyberte vhodný protokol.
2. Navlhčenou tkaninou alebo papierovým uteráčikom utrite každú skúmavku, aby sa zabezpečilo, že na jej povrchu nie sú žiadne zvyšky a vložte skúmavku do luminometra podľa pokynov dodávaných k prístroju.
3. Po ukončení analýzy vyberte skúmavku(y) z luminometra.

POZNÁMKY K POSTUPU

- A. ČINIDLÁ: Čídlom 2 (hybridizačný tlmivý roztok) sa môže vyvrátať zahrievaním a miešaním roztoku pri teplote od 35 do 60 °C sa zrazenina rozpustí.
- B. TEPLOTA: Hybridizačná a selekčná reakcia sú závislé na teplote. Preto je nevyhnutné udržiavať teplotu vodného kúpeľa alebo vyhrievacieho telesa v medziach stanoveného teplotného rozpätia.
- C. DOBA: Hybridizačná a selekčná reakcia sú závislé na čase. Hybridizujte najmenej 15 minút, ale najviac 20 minút. Inkubujte skúmavky s čídlom so sondou počas kroku SELEKCIE najmenej 5 minút, ale najviac 6 minút.
- D. VODNÝ KÚPEL: Hladina vody vo vodnom kúpeli by sa mala udržiavať tak, aby sa zabezpečilo, že skúmavky s lýzujúcim čídlom budú ponorené po krúžok viečka, ale nie nad ním. Taktiež treba zabezpečiť, aby bol ponorený celý tekutý objem čídlom v skúmavkách s čídlom so sondou.
- E. MIEŠANIE NA VORTEXE: počas PRÍPRAVY VZORKY a SELEKCIE má podstatný význam udržiavanie zmesi v homogénnom stave, obzvlášť po pridaní buniek do čídiel 1 a 2 a po pridaní čídlom 3.
- F. HLADANIE CHÝB:

1. Zvýšené hodnoty negatívnej kontroly (*M. tuberculosis* ATCC č. 25177) vyššie ako 10 000 RLU (Relative Light Units) v Leader luminometri alebo 300 PLU (Photometric Light Units) v AccuLDR (predtým PAL), môžu byť zapríčinené nedostatočným miešaním po pridaní čídlom 3 (selekčné čídlom) alebo testovaním zmiešaných kultúr. Pretože sa môžu vyskytnúť zmiešané kultúry, časť nárastu sa môže naniest' na vhodné agarové médium a inkubovať, aby sa posúdili rozmanité typy kolónií.
2. Nízke hodnoty pozitívnej kontroly (*M. avium* ATCC č. 25291 alebo *Mycobacterium intracellulare* ATCC č. 13950) nižšie ako 30,000 RLU v Leader alebo 900 PLU v AccuLDR (predtým PAL), môžu byť zapríčinené nedostatočným množstvom buniek, nesprávnou sonikáciou alebo testovaním zmiešaných či prezretých kultúr. Pretože sa môžu vyskytnúť zmiešané kultúry, časť nárastu sa môže naniest' na vhodné agarové médium a inkubovať, aby sa posúdili rozmanité typy kolónií.

VÝSLEDKY

A. INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV

Výsledky testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST sú založené na nasledujúcich hraničných hodnotách. Vzorky, ktoré dávajú signály väčšie alebo rovné týmto hraničným hodnotám sa považujú za pozitívne. Vzorky, ktoré dávajú signály nižšie ako hraničné hodnoty sa považujú za negatívne. Výsledky v rozpätí opakovania testu treba zopakovať. Ak opakované testovanie poskytuje neurčité výsledky, treba izolovať subkultivovať, kvôli overeniu jeho čistoty.

	AccuLDR (predtým PAL)	Leader
Kritická hodnota	900 PLU	30 000 RLU
Rozpätie opakovania	600 - 899 PLU	20 000-29 999 RLU

B. KONTROLA KVALITY A PRIJATEĽNOSŤ VÝSLEDKOV

Negatívna kontrola (napr. *M. tuberculosis*, ATCC č. 25177) a pozitívna kontrola (napr. *M. avium*, ATCC č. 25291, či z bujónu alebo z tuhého média, musia zodpovedať nasledujúcim hodnotám:

	AccuLDR (predtým PAL)	Leader
Negatívna kontrola	< 300 PLU	< 10 000 RLU
Pozitívna kontrola	> 900 PLU	> 30 000 RLU

Ak hodnoty pozitívnej alebo negatívnej kontroly nie sú v požadovanom rozpätí, výsledky testov nemožno hlásiť.

OBMEDZENIA

Táto metóda bola testovaná na čerstvom náraste na tuhom médiu a v bujóne, uvedených v časti ODBER A PRÍPRAVA VZORIEK. Účinnosť tohto testu nebola dokázaná priamo na klinických vzorkách (napr. moč, stolica, alebo vzorky z dýchacích ciest).

Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST nerozlišuje jednotlivých členov *M. avium* komplexu. Izoláty oboch druhov budú identifikované ako *M. avium* komplex.

Existuje malé množstvo biochemicky zistených izolátov *M. avium* komplexu, ktoré nemožno sérologickými alebo HPLC metódami určiť ako *M. avium* alebo *M. intracellulare*. Niektoré z týchto kmeňov nemožno detekovať ani pomocou testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Presný taxonomický status týchto kmeňov je v súčasnosti nejasný. Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST identifikuje kmene *M. avium* komplexu, ako patriace do tohto komplexu na základe postupov tradičných biochemických metód HPLC alebo GLC. Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST môže detegovať neobvyklé kmene *M. avium* komplexu, ktorých klinický význam nebol stanovený.

Výsledky z testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST je potrebné interpretovať v spojení s inými laboratórnymi a klinickými údajmi, ktoré má klinický lekár k dispozícii.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST bol porovnávaný so štandardnými kultivačnými biochemickými identifikačnými metódami na troch pracoviskách. Pracoviskom 1 bola firma Hologic Incorporated, pracoviskami 2 a 3 boli referenčné laboratória. Bolo testovaných sedemstosedemnást izolátov *Mycobacterium avium* komplexu (51 *M. avium*, 42 *M. intracellulare* a 624 *M. avium* komplex) a 235 izolátov iných mykobakteriálnych kmeňov, reprezentujúcich 22 druhov. Izoláty boli kategorizované ako buď pozitívne ($\geq 30\,000$ RLU) alebo negatívne ($< 30\,000$ RLU). Rozpätie záznamov pre negatívne kultúry bolo 1 353 až 14 675 RLU a pre pozitívne kultúry 30 829 až 2 742 691 RLU. Porovnanie týchto výsledkov so štandardnými kultivačnými identifikačnými metódami je uvedené nižšie.

ACCUPROBE / ŠTANDARDNÉ BIOCHEMICKÉ POSTUPY

AccuProbe Kultivácia	Poz	Poz Neg	Neg Poz	Neg Neg	Citlivosť / Špecificita	Percento Zhoda
Miesto 1	44	0	0	47	100 %/100 %	100 %
Miesto 2	146	0	1	102	99,3 %/100 %	99,6 %
Miesto 3	526	0	17	74	96,9 %/100 %	97,2 %
Celkove	716	0	18	223	97,6 %/100 %	98,1 %

Po objasnení diskrepancií

ACCUPROBE / ŠTANDARDNÉ BIOCHEMICKÉ POSTUPY

AccuProbe Kultivácia	Poz	Poz Neg	Neg Poz	Neg Neg	Citlivosť / Špecificita	Percento Zhoda
Miesto 1	44	0	0	47	100 %/100 %	100 %
Miesto 2	146	0	1	102	99,3 %/100 %	99,6 %
Miesto 3	526	0	1	86	100 %/100 %	100 %
Celkove	716	0	2	235	99,9 %/100 %	99,9 %

Jedna vzorka s odlišnými výsledkami v mieste 2 (2416) bola analyzovaná pomocou CDC, Atlanta, Georgia a bola identifikovaná ako *M. avium* komplex analýzou HPLC. Model citlivosti tohto organizmu na liečivá bol netypický pre člena *M. avium* komplexu a netypické boli aj biochemické výsledky.

Na pracovisku 3 bolo 17 pôvodných odlišných výsledkov. Dva z nich (7755, 5113) boli chybné identifikované a boli opätovne identifikované pomocou HPLC a GLC ako *M. nonchromogenicum*. Tri kultúry boli zo štúdie vyradené, pretože dve z nich boli zmiešané (4750, 8168) a jedna kultúra už nebola životaschopná (0601). Ďalšie dve kultúry boli vyradené zo štúdie, pretože ich nebolo možné definitívne identifikovať ako patriace k MAC: 2344 a 5124 sú identifikované ako "najviac podobné MAC." Výsledky HPLC u siedmich ďalších odlišných výsledkov boli získané z CDC, Atlanta, Georgia. Kmeň PE09 a 6458 boli identifikované ako *M. xenopi* 2, kým 9714 a 8310 boli identifikované ako *M. terrae* komplex. Odlišné výsledky 1264 a 3634 boli identifikované ako *M. scrofulaceum* pomocou CDC založenej na modeloch HPLC. Kmeň 1264 vykazoval model SC007 kým kmeň 3634 vykazoval model EM002.

Kmeň 0214 bol identifikovaný ako *M. simiae*, kým 8153 bol potvrdený ako MAIS HPLC model EM005. Izoláty 2888 a 2971 boli identifikované ako "neidentifikovateľný skotochromogén." Členovia *M. avium* komplexu nie sú skotochromogénni.

Po objasnení je teda celková citlivosť 99,9 %, špecificita 100 %, a percento zhody je 99,9 %.

V samostatnom hodnotení 148 neobvyklých izolátov MAC, poskytnutých referenčnými laboratóriami z dôvodu ťažkostí s identifikáciou, reagovalo 120 so sondou *M. avium* komplexu pozitívne. Dvadsaťosem izolátov poskytlo so sondou negatívne výsledky. Tieto izoláty ďalej skúma CDC. Taxonomický status neobvyklých kmeňov *M. avium* komplexu je tiež posudzovaný Medzinárodnou pracovnou skupinou pre taxonómiu mykobaktérií (International Working Group in Mycobacterial Taxonomy).

CHARAKTERISTIKY STANOVENIA

A. PRESNOŠŤ POČAS PRIEBEHU

Presnosť počas priebehu testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST bola vypočítaná testovaním dvoch koncentrácií ribozomálnej RNA izolovanej z *M. avium*, *M. intracellulare* alebo non-*M. avium*, non-*M. intracellulare* *M. avium* komplexu s použitím 12 opakovaní v jednom teste.

Vzorka	<i>Mycobacterium avium</i>	
	A	B
Počet opakovaní	12	12
Priemerná hodnota odpovede	67 574	112 246
Štandardná odchýlka	2 900	3 429
Koeficient variácie	4,3 %	3,1 %

Vzorka	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	
	A	B
Počet opakovaní	12	12
Priemerná hodnota odpovede	61 758	100 736
Štandardná odchýlka	3 941	3 275
Koeficient variácie	6,4 %	3,3 %

Vzorka	<i>M. avium</i> komplex	
	A	B
Počet opakovaní	12	12
Priemerná hodnota odpovede	64 148	113 049
Štandardná odchýlka	3 384	3 249
Koeficient variácie	5,3 %	2,9 %

B. PRESNOŠŤ MEDZI PRIEBEHMI

Presnosť medzi priebehmi bola vypočítaná testovaním dvoch rovnakých koncentrácií ribozomálnej RNA z *M. avium*, *M. intracellulare* non-*M. avium*, non-*M. intracellulare* *M. avium* komplexu s použitím jediného stanovenia v 10 po sebe idúcich priebehoch.

Vzorka	<i>Mycobacterium avium</i>	
	A	B
Počet opakovaní	10	10
Priemerná hodnota odpovede	65 790	125 506
Štandardná odchýlka	4 535	9 115
Koeficient variácie	6,9 %	7,3 %

Vzorka	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	
	A	B
Počet opakovaní	10	10
Priemerná hodnota odpovede	60 175	104 203
Štandardná odchýlka	6 339	9 239
Koeficient variácie	10,5 %	8,9 %

Vzorka	<i>M. avium complex</i>	
	A	B
Počet opakovaní	10	10
Priemerná hodnota odpovede	64 187	111 197
Štandardná odchýlka	4 659	10 011
Koeficient variácie	7,3 %	9,0 %

C. ŠPECIFICITA

Celkove bolo zhodnotených 122 izolátov ATCC kultúr s použitím testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Tieto izoláty reprezentovali celkove 93 druhov a 37 rodov. Použitím testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST boli hodnotené tri izoláty *M. avium* komplexu, 60 izolátov 55 iných mykobakteriálnych druhov a 59 izolátov 36 iných rodov reprezentujúcich fylogenetický prierez organizmov. Iba testované izoláty *M. avium* komplexu poskytli pozitívny výsledok pomocou testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Iné mykobakteriálne druhy a izoláty predstaviteľov fylogenetického prierezu v tomto teste nereagovali.

D. VÝŤAŽNOSŤ

Ribozomálna RNA *M. avium*, *M. intracellulare* a *M. avium* komplexu v koncentráciách v rozpätí od $2,5 \times 10^{-3}$ mg do $4,0 \times 10^{-2}$ mg na test bola testovaná v prítomnosti 15 miliónov buniek buď *Mycobacterium terrae*, *M. simiae* alebo *Nocardia asteroides*. Nebola pozorovaná žiadna interferencia signálu *M. avium* komplexu a iné prítomné organizmy nereagovali v teste ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST.



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



Hologic N.V.
Da Vinciiaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov, ktoré sú uvedené na webovej stránke www.hologic.com/patents.

102902F-01-SK Rev. 003
©1990 - 2018 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.
2018-03