

# AccuProbe®

## TEST DO IDENTYFIKACJI MYCOBACTERIUM KANSASII Z KULTURY BAKTERYJNEJ

TYLKO DO UŻYTKU NA EKSPORT  
(bioMérieux ref. 39003 / Hologic Cat. No. 102855)

### ZASTOSOWANIE

TEST DO IDENTYFIKACJI MYCOBACTERIUM KANSASII Z KULTURY BAKTERYJNEJ ACCUPROBE jest szybkim testem zawierającym sondę DNA, który wykorzystuje technikę hybrydyzacji kwasów nukleinowych do identyfikacji *Mycobacterium kansasii* wyizolowanego z kultury bakteryjnej.

### OPIS I WYJAŚNIENIE ZASADY TESTU

*Mycobacterium kansasii* (*M. kansasii*) jest wolno-rosnącą bakterią fotochromogenną, która jest przyczyną przewlekłej choroby płuc u człowieka przypominającą gruźlicę (1). Rozsiane infekcje wywołana przez mykobakterie nie gruźlicze, tak jak w przypadku *M. kansasii* stają się istotne dla zdrowia publicznego powodując ekspansję epidemii AIDS w Stanach Zjednoczonych (2). *M. kansasii* stanowi 3.5% patogennych izolatów opisanych przez Centrum Kontroli Chorób w 1980 r (3).

Źródło endemii *M. kansasii* nie jest znane. Nie udało się wyizolować (*M. kansasii*) z próbek ziemi, natomiast kilka szczepów zostało wyizolowanych z wody (1).

Klasyczne metody identyfikacji szczepów mykobakterii są wykonywane w oparciu o barwienie preparatów sporządzonych z próbek od pacjentów w kierunku obecności pałeczek kwasoopornych, następnie sporządzenie hodowli i przeprowadzenie testów biochemicznych. Komórki *M. kansasii* charakteryzują się umiarkowaną długością wśród pałeczek kwasoopornych. Kolonie mogą przybierać kształt od płaskich do wypukłych o nieregularnych brzegach gładkiej lub szorstkiej morfologii. Kolonie *M. kansasii* inkubowane bez dostępu światła są typowo niechromogenne, natomiast wytwarzają żółty barwnik po ekspozycji na światło (fotochromogenność). Przedłużająca się ekspozycja na światło może indukować wytwarzanie ciemno czerwonych kryształków β karotenu na powierzchni i wewnątrz kolonii. Reakcje biochemiczne dają wynik pozytywny redukcji azotanów, hydrolizy tweenu, hydrolizy mocznika i aktywności katalazy. Używając tych standardowych metod określenie gatunku wyizolowanego szczepu *Mycobacterium* wymaga około 2 miesięcy (1,4).

TEST DO IDENTYFIKACJI MYCOBACTERIUM KANSASII Z KULTURY BAKTERYJNEJ ACCUPROBE oferuje szybką, obiektywną i dokładną metodę do identyfikacji *M. kansasii* wyizolowanego z hodowli. Identyfikację kolonii można wykonać bezpośrednio po zaobserwowaniu wzrostu. TEST DO IDENTYFIKACJI MYCOBACTERIUM KANSASII Z KULTURY BAKTERYJNEJ ACCUPROBE identyfikuje wyizolowane z hodowli organizmy *M. kansasii* w czasie krótszym aniżeli jedna godzina.

### ZASADY TESTU

Testy hybrydyzacji kwasów nukleinowych są oparte na zdolności specyficznego łączenia się komplementarnej nici kwasu nukleinowego w stabilne dwuniciowe kompleksy (5). System AccuProbe wykorzystuje jednoniciową sondę DNA znakowaną chemiluminescencyjnie, która jest komplementarna do rybosomalnego RNA docelowego organizmu. Po uwolnieniu rybosomalnego RNA z organizmu, znakowana sonda DNA łączy się z docelowym rybosomalnym RNA organizmu w stabilną DNA:RNA hybrydę. Odczynnik do Selekcji pozwala na zróżnicowanie niezhybrydyzowanej i zhybrydyzowanej sondy. Znakowane hybrydy DNA:RNA są oznaczane w luminometrze Hologic. Pozytywny wynik jest odczytywany w luminometrze jako równy lub wyższy aniżeli punkt odcięcia. Wartość poniżej tego punktu odcięcia daje wynik negatywny.

### ODCZYNNIKI

**Uwaga:** Aby uzyskać informacje dotyczące zagrożeń oraz oświadczenia o środkach ostrożności w postępowaniu z odczynnikami, należy skorzystać z Safety Data Sheet Library [Biblioteki Kart Charakterystyki Bezpieczeństwa Substancji] pod adresem [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

Odczynniki do TESTU ACCUPROBE MYCOBACTERIUM KANSASII DO IDENTYFIKACJI KULTURY są dostarczone w trzech oddzielnych zestawach:

### ZESTAW ZAWIERAJĄCY SONDĘ MYCOBACTERIUM KANSASII ACCUPROBE

Odczynnik Zawierający Sondę (P) (4 x 5 probówek)

*Mycobacterium kansasii*

Probówki do Lizy (LT) (1 x 20 probówki)

Perełki szklane i bufor

### ODCZYNNIKI DO IDENTYFIKACJI KULTURY ACCUPROBE

Odczynnik 1 (Odczynnik do Lizy) (1) 1 x 10 mL

Zbuforowany roztwór zawierający 0.04% azydku sodu

Odczynnik 2 (Bufor do Hybrydyzacji) (2) 1 x 10 mL

Zbuforowany Roztwór

Odczynnik 3 (Odczynnik do Selekcji) (3) 1 x 60 mL

Zbuforowany Roztwór

### ODCZYNNIKI HOLOGIC DO DETEKCJI

Odczynnik do Detekcji I (RI) 1 x 240 mL

0.1% woda utleniona w 0.001 N. kwasie azotowym

Odczynnik do Detekcji II (RII) 1 x 240 mL

1 N wodorotlenek sodu

### OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- A. Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.
- B. Stosować powszechnie używane środki ostrożności w trakcie wykonywania tego testu (6).
- C. Stosować wyłącznie do identyfikacji *M.kansasii* wyizolowanego z kultury.
- D. Używać wyłącznie dostarczonych lub specyficznych dla pracy laboratorium wyrobów jednorazowych.
- E. Przesiewy z hodowli i wszystkie kroki związane z postępowaniem z hodowlą łącznie z inaktywacją przez podgrzewanie powinny być wykonywane w Laboratorium II Klasy Zabezpieczenia Biologicznego.
- F. Odczynniki w tym teście zawierają azydek sodu, który może się łączyć z ołowiem lub miedzią w potencjalnie wybuchowe związki metalu. Przed usunięciem tych odczynników, zawsze należy rozcieńczyć materiał dużą ilością wody aby zapobiec niepożądanym reakcjom.
- G. Unikać kontaktu Odczynników do Odczytu I i II ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli doszło do kontaktu skóry z odczynnikami, przemyć to miejsce obficie wodą. Jeżeli odczynniki rozlały się, należy rozcieńczyć je wodą przed wytarciem powierzchni.

### PRZECHOWYWANIE TESTU I WYMAGANIA HANDLOWE

Probówki zawierające Odczynnik z Sondą muszą być przechowywane w foliowych saszetkach w temp. 2° do 8°C. Probówki z Odczynnikami zawierającymi Sondę, jeżeli saszetka nie była otwierana, zachowują stabilność zgodnie z datą ważności. Raz otwarta saszetka powinna być ponownie szczelnie zamknięta, probówki powinny być zużyte w ciągu dwóch miesięcy i przed upływem daty ważności.

Inne Odczynniki używane w Teście DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM KANSASII ACCUPROBE mogą być przechowywane w temp. między 2° a 25°C i zachowują stabilność zgodnie z datą ważności.

### NIE ZAMRAŻAĆ ODCZYNNIKÓW

### POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK

TEST DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM KANSASII ACCUPROBE jest przeznaczony do identyfikacji *M. kansasii* izolowanego z kultury.

- A. **Hodowla na Podłożu Stałym.** Uzyskany wzrost na podłożach stałych takich jak: skosy Lowensteina-Jensena, Middlebrooka 7H10 lub na płytkach 7H11, wizualnie przypominający *M. kansasii* należy poddać badaniu. Próbkę mogą być badane bezpośrednio po zaobserwowaniu wzrostu oraz podczas następnego sześćdziesięciu dni inkubacji.
  1. Wzrost należy zebrać 1 µl jednorazową plastikową lub metalową ęzą albo plastikową igłą. Nie należy używać wymazówek, z uwagi na zbyt małą objętość cieczy, w której znajdują się komórki.

2. Unikać pobrania stałego podłoża razem z komórkami.
  3. Osoba prowadząca badanie w tym czasie może wybrać kolonie z innej płytki w celu potwierdzenia czystości izolatu.
- B. **Hodowla bulionowa.** Wzrost na podłożu bulionowym Middlebrooka 7H9 o gęstości równej lub większej od 1 Standardu Nefelometrycznego McFarlanda może być badany Testem DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM KANSASII ACCUPROBE. Należy pobrać pipetą 100µl próbki z dobrze wymieszanej zawiesiny bulionowej i przenieść do Probówek z Odczynnikami do Lizy, jak opisano poniżej.

## DOSTARCZONE MATERIAŁY

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM KANSASII CULTURE IDENTIFICATION TEST  
**bioMérieux ref. 39003 / Hologic Cat. No. 102855**

### 20 testów

Odczynnik Zawierający Sondę (P)	4 x 5 probówek
Probówki do Lizy (LT)	1 x 20 probówek

## MATERIAŁY WYMAGANE LECZ NIE DOSTARCZONE W ZESTAWIE

1 µl plastikowe jałowe ezy do posiewów, ezy metalowe lub plastikowe igły do selekcji kolonii  
Szczepy do Kontroli Hodowli  
Łaźnia wodna lub sucha łaźnia\* (60° ± 1°C)  
Łaźnia wodna lub sucha łaźnia\* (95° ± 5°C)  
Mikropipety (100 µl, 300 µl)  
Repipetor (100 µl, 300 µl)  
Mieszadło Vortex  
McFarland 1 Standard Nefelometryczny

\*Blok grzejny w suchej łaźni powinny mieć otwory dostosowane do ogrzewania probówek o rozmiarach 12 x 75 mm. Zaleca się używanie suchej łaźni Hologic.

## PRODUKTY DOSTĘPNE U DYSTRYBUTORA HOLOGIC

Luminometr Hologic Leader 50i  
(bioMérieux ref. 39400 / Hologic Cat. No. 103100i)  
ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT  
(bioMérieux ref. 39305 / Hologic Cat. No. 102800)  
HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT  
(bioMérieux ref. 39300 / Hologic Cat. No. 201791)  
Sucha łaźnia (60° ± 1°C)  
(bioMérieux ref. 39406)  
Sucha łaźnia (95° ± 1°C)  
(bioMérieux ref. 39407)  
Sucha łaźnia podwójna (60°/95° ± 1°C)  
(bioMérieux ref. 39408)  
Sonikator Hologic  
(bioMérieux ref. 39409 / Hologic Cat. No. 901104)  
Statyw do Sonikatora Hologic  
(bioMérieux ref. 39313 / Hologic Cat. No. 104027)

## WYKONANIE TESTU

### A. PRZYGOTOWANIE SPRZĘTU

1. W celu swobodnego przepływu ultradźwięków, woda musi być dokładnie odgazowana zgodnie z następującym postępowaniem:
  - a. Napełnić sonikator gorącą wodą, tak aby do górnej krawędzi pozostał 1 cm.
  - b. Uruchomić sonikator na 15 min. w celu dokładnego odgazowania wody.
2. Dostosować jeden blok grzejny lub łaźnię wodną do temp. 60° ± 1°C i następny blok grzejny lub łaźnię wodną do temp. 95° ± 5°C.
3. Przygotować luminometr Hologic Leader do pracy. Upewnić się, że jest wystarczająca ilość Odczynników do Odczytu I i II do wykonania testu.

## B. SZCZEPY KONTROLNE

Szczepy używane do kontroli pozytywnej i negatywnej powinny być zbadane rutynowo w każdym laboratorium zgodnie z miejscowymi przepisami. Hodowla *M. kansasii* (np., American Type Culture Collection, ATCC #12478) może być używana jako kontrola pozytywna, natomiast hodowla *Mycobacterium tuberculosis* (np., ATCC # 25177) może być używana jako kontrola negatywna.

## C. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

1. Oznaczyć odpowiednim numerem Probówki z Odczynnikiem Lizującym przeznaczone do badania wyizolowanych hodowli i/lub kontroli. Zdjąć i zatrzymać koreczki.
2. Odpipetować 100 µl Odczynnika 1 (Odczynnika do Lizy) i 100 µl Odczynnika 2 (Buforu do Hybrydyzacji) do wszystkich probówek z Odczynnikiem Lizującym. **Jeżeli będzie badana hodowla bulionowa, nie należy dodawać Odczynnika 1 do Probówek z Odczynnikiem Lizującym .**
3. Przenieść próbkę szczepu ze stałego podłoża lub 100 µl dobrze wymieszanej hodowli bulionowej do oznaczonych Probówek z Odczynnikiem Lizującym tak, jak opisano w dziale POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK. Ruchem wirowym zamieszać eż lub igłą mieszaninę Odczynnika 1 i Odczynnika 2 przygotowując w ten sposób zawiesinę z uwolnionych komórek, jeżeli badany wzrost pochodzi ze stałego podłoża.
4. Zamknąć Probówki z Odczynnikiem Lizującym i krótko wymieszać mieszadłem Vortex.

## D. LIZA PRÓBEK

1. Wcisnąć Probówki z Odczynnikiem Lizującym do Statywu Sonikatora w ten sposób aby mieszanina reakcyjna była zanurzona w wodzie, a nakrętki probówek znajdowały się powyżej poziomu wody. Umieścić Statyw w łaźni wodnej sonikatora. **NIE POZWALAĆ ABY PROBÓWKI DOTYKAŁY DNA LUB ŚCIANEK SONIKATORA.**
2. Sonikować przez 15 minut.
3. Umieścić Probówki z Odczynnikiem do Lizy zawierające zsonikowane organizmy w bloku grzejnym lub łaźni wodnej na 10 minut w temp.  $95^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ .
4. Ostrożnie wyjąć Probówki z Odczynnikiem do Lizy z bloku grzejnego lub łaźni wodnej.

## E. HYBRYDYZACJA

1. Otworzyć foliową saszetkę przecinając ją równoległe do górnej krawędzi. Wyjąć odpowiednią liczbę Probówek z Sondą (Probe Reagent Tubes) do zbadania izolatów z hodowli i/lub kontroli. Zamknąć ponownie saszetkę przez zagięcie kilkakrotnie otwartej krawędzi saszetki i zabezpieczyć taśmą samoprzylepną lub klipsem. **Pozostawić torebkę z substancją osuszającą wewnątrz saszetki.**
2. Ponumerować odpowiednią liczbę Probówek z Odczynnikiem zawierającym Sondę przeznaczonych do zbadania izolatów z hodowli i/lub kontroli. Zdjąć i zachować koreczki.
3. Odpipetować 100 µl zlizowanych próbek z Probówek z Odczynnikiem Lizującym do odpowiednich Probówek z Odczynnikiem zawierającym Sondę.
4. Zamknąć Probówki z Odczynnikiem z Sondą i inkubować przez 15 minut w temp.  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  w łaźni wodnej lub bloku grzejnym.

## F. SELEKCJA

1. Wyjąć Probówki z Odczynnikiem z Sondą z łaźni wodnej lub z bloku grzejnego. Zdjąć i zachować koreczki. Odpipetować po 300 µl Odczynnika 3 (Odczynnik do Selekcji) do każdej probówki. Zamknąć probówki i bardzo dokładnie je wymieszać mieszadłem Vortex.
2. Inkubować probówki z Odczynnikiem z Sondą przez 8 minut w temp.  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  w łaźni wodnej lub bloku grzejnym
3. Wyjąć probówki z Odczynnikiem z Sondą z łaźni wodnej lub bloku grzejnego i pozostawić je w temperaturze pokojowej przez następne 5 minut. Zdjąć i wyrzucić koreczki. **Odczytać wyniki w luminometrze w ciągu jednej godziny.**

## G. ODCZYTYWANIE WYNIKÓW

1. Należy wybrać właściwy program z oprogramowania luminometru.
2. Używając wilgotnej chusteczki lub papierowego ręcznika, wytrzeć każdą probówkę w celu usunięcia pozostałości z zewnętrznej ścianki probówek i wstawić probówkę do luminometru zgodnie z instrukcją obsługi aparatu.
3. Po zakończeniu odczytu, wyjąć probówkę(i) z luminometru.

## UWAGI PRAKTYCZNE

- A. ODCZYNNIKI: Odczynnik 2 (Bufor do Hybrydyzacji) może się wytrącić. Podgrzewanie i mieszanie roztworu w temp. od 35°C do 60°C pozwoli na rozpuszczenia precipitatu.
- B. TEMPERATURA: Reakcja Hybrydyzacji i Selekcji są zależne od temperatury. Dlatego konieczne jest aby temperatura łaźni wodnej lub bloku grzejnego była utrzymywana w odpowiednim zakresie.
- C. CZAS: Reakcja Hybrydyzacji i Selekcji są zależne od czasu. Hybrydyzacja trwa co najmniej 15 minut ale nie dłużej niż 20 minut. Inkubacja Probówek z Odczynnikami zawierającym Sondę podczas SELEKCJI trwa co najmniej 8 minut ale nie dłużej niż 9 minut.
- D. ŁAŹNIA WODNA: Poziom wody w łaźni wodnej powinien być utrzymywany, tak aby zapewnić zanurzenie Probówek z Odczynnikami Lizującym, jednak nie powinien sięgać powyżej zaznaczonego pierścienia. Należy również zapewnić całkowite zanurzenie w wodzie płynnej części reakcyjnej Probówek z Odczynnikami zawierającym Sondę.
- E. WYTRZĄSANIE: Bardzo istotne jest uzyskanie homogennej mieszaniny podczas PRZYGOTOWYWANIA PRÓBEK oraz podczas etapów SELEKCJI, zwłaszcza po dodaniu komórek do Odczynnika 1 i 2 oraz po dodaniu Odczynnika 3.
- F. ROZWIĄZYWANIE PROBLEMÓW
1. Podwyższone wartości kontroli negatywnej (*M. tuberculosis* ATCC # 25177) powyżej 10,000 RLU (Względne jednostki światła) w LUMINOMETRZE Leader lub 300 PLU (Fotometryczne jednostki światła) w aparacie AccuLDR (poprzednio PAL) mogą być spowodowane niewystarczającym wymieszaniem próbki po dodaniu odczynnika 3 (Odczynnik do Selekcji) lub na skutek badania mieszanych hodowli. Ze względu na możliwość występowania mieszanych hodowli, część wzrostu należy przesiać na odpowiednie podłoże agarowe i inkubować w celu sprawdzenia namnożonych typów kolonii.
  2. Niskie wartości kontroli pozytywnej (*M. kansasii* ATCC # 12478) niższe od 30,000 RLU w LUMINOMETRZE Leader lub 900 PLU w AccuLDR (poprzednio PAL) mogą być spowodowane niewystarczającą liczbą komórek, niewłaściwą sonikacją lub badaniem mieszanych albo starych hodowli. Ze względu na możliwość występowania mieszanych hodowli, część wzrostu należy przesiać na odpowiednie podłoże agarowe i inkubować w celu sprawdzenia typów namnożonych kolonii.

## WYNIKI

### A. INTERPRETACJA WYNIKÓW

#### Wyniki TESTU ACCUPROBE DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM KANSASII

Wyniki TESTU ACCUPROBE DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM KANSASII opierają się na następujących wartościach punktów odcięcia /cut-off/. Próbki emitujące sygnały wyższe lub równe tym wartościom, są uznawane jako dodatnie. Próbki emitujące sygnały niższe aniżeli wartość tego punktu odcięcia są uznawane jako ujemne. Wyniki w powtarzających się zakresach powinny być powtórzone.

	<b>AccuLDR</b> (poprzednio PAL)	<b>Leader</b>
Wartość punktu odcięcia	900 PLU	30,000 RLU
Zakres do powtórzenia	600 - 899 PLU	20,000-29,999 RLU

## B. KONTROLA JAKOŚCI I AKCEPTOWANIE WYNIKÓW

Kontrola ujemna (np., *M. tuberculosis* ATCC # 25177) i kontrola dodatnia (np., *M.kansasii* ATCC # 12478), powinny wykazywać następujące wartości:

	<b>AccuLDR</b> (poprzednio PAL)	<b>Leader</b>
Kontrola ujemna	< 300 PLU	< 10,000 RLU
Kontrola dodatnia	> 900 PLU	> 30,000 RLU

## OGRANICZENIA

Metoda została przetestowana przy użyciu młodej kultury wyhodowanej na stałym lub płynnym podłożu jak opisano w części pt. POBIERANIE I OPRACOWYWANIE PRÓBEK. Skuteczności testu nie badano przy użyciu bezpośrednich materiałów klinicznych takich jak: (np., mocz, stolec, wydzielina z układu oddechowego).

Wyniki Testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM KANSASII DO IDENTYFIKACJI KULTURY powinny być interpretowane w zestawieniu z innymi laboratoryjnymi i klinicznymi wynikami dostępnymi dla lekarza klinicysty.

## OCZEKIWANE WARTOŚCI

TEST ACCUPROBE MYCOBACTERIUM KANSASII DO IDENTYFIKACJI KULTURY był porównywany w pięciu ośrodkach do standardowych hodowlanych i biochemicznych metod stosowanych do identyfikacji kultury przy użyciu 535 izolatów. Te izolaty reprezentowały 353 szczepy *M. kansasii* i 182 szczepy z 50 innych gatunków *Mycobacterium*. Standardowe metody identyfikacji kultury są uzależnione od intensywności wzrostu kolonii, morfologii komórek (charakterystyczna fotochromogenność), badania mikroskopowego, HPLC (wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej) i serii reakcji biochemicznych. Izolaty były zaklasyfikowane jako pozytywne ( $\geq 30,000$  RLU) lub negatywne ( $< 30,000$  RLU). Zakres wyników dla kultur negatywnych wynosił od 1,156 do 26,655 RLU i od 1,615 do 1,181,622 RLU dla kultur pozytywnych. Porównanie uzyskanych wyników do standardowej metody hodowlanej jest pokazane poniżej.

### ACCUPROBE / IDENTYFIKACJA METODĄ HODOWLI

<b>AccuProbe Hodowla</b>	<b>Poz Poz</b>	<b>Poz Neg</b>	<b>Neg Poz</b>	<b>Neg Neg</b>	<b>Czułość Specyficzność</b>	<b>Procent Zgodności</b>
Ośrodek 1	85	0	0	54	100%/100%	100%
Ośrodek 2	100	0	0	20	100%/100%	100%
Ośrodek 3	27	6	1	6	96.4%/50%	82.5%
Ośrodek 4	96	0	4	102	96.0%/100%	98.0%
Ośrodek 5	32	0	2	0	94.1%/ N/A	94.1%
<b>Ogółem</b>	<b>340</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>182</b>	<b>98.0%/96.8%</b>	<b>97.6%</b>

Sześć izolatów z Ośrodka 3 oceniona pozytywnie Testem AccuProbe w hodowli oceniona jako negatywna, była wysłana do Centrum Prewencji i Kontroli Chorób do analizy metodą HPLC. Wszystkie sześć izolatów zostało pierwotnie określonych jako *M. gastrii*, ale powtórnie przeprowadzone badanie dało wynik potwierdzający identyfikację *M. kansasii*. Czułość i specyficzność Ośrodka 3 wynosiła odpowiednio 97.1% i 100%.

Ogólna czułość, specyficzność i procent zgodności przy powtórnym badaniu wynosiła odpowiednio 98%, 100% i 98.7%.

## CHARAKTERYSTYKA PROCESÓW

### A. POWTARZALNOŚĆ

Powtarzalność przebiegu TESTU DO IDENTYFIKACJI HODOWLI MYCOBACTERIUM KANSASII ACCUPROBE obliczano na podstawie analizy dwóch stężeń rybosomalnego RNA wyizolowanego z *M. kansasii* stosując 10 powtórzeń dla pojedynczego oznaczenia.

<b>Próbka</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
Liczba powtórzeń	10	10
Średnia wartość impulsu	55,496	103,798
Odchylenie standardowe	3,542	3,829
Współczynnik zmienności	6.4%	3.7%

## B. ODTWARZALNOŚĆ

Odtwarzalność oceniano na podstawie analizy takich samych dwóch stężeń rybosomalnego RNA *M.kansasii* stosując 12 kolejnych powtórzeń dla jednej próby.

Próbka	A	B
Liczba powtórzeń	12	12
Średnia wartość impulsu	58,001	110,715
Odchylenie standardowe	3,698	6,825
Współczynnik zmienności	6.4%	5.8%

## C. SWOISTOŚĆ

Ogółem oceniono 148 referencyjnych izolatów ATCC przy użyciu TESTU DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM KANSASII ACCUPROBE. Te izolaty reprezentowały 136 gatunków z 44 rodzajów.

Przy pomocy tego testu oznaczono jedenaście izolatów *M. kansasii*, 64 izolaty z 62 innych gatunków Mycobacterium i 78 izolatów z 43 innych rodzajów reprezentujących przekrój filogenetyczny organizmów. Jedynie izolaty *Mycobacterium kansasii* badane przy użyciu TESTU DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM KANSASII ACCUPROBE dawały pozytywny wynik. Inne gatunki Mycobacterium oraz izolaty spokrewnione filogenetycznie nie reagowały w tym teście.

## D. ODZYSKIWANIE

Rybosomalne RNA *M. kansasii* w stężeniu od  $1 \times 10^{-4}$   $\mu\text{g}$  i  $5 \times 10^{-1}$   $\mu\text{g}$  na jeden test było analizowane w obecności 30 mln. Komórek innych gatunków: *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium tuberculosis* lub *Nocardia asteroides*. Nie zaobserwowano interferencji między pozytywnym sygnałem *M. kansasii* rRNA rozcieńczeniami i innymi badanymi organizmami w TEŚCIE DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM KANSASII ACCUPROBE.

## BIBLIOGRAFIA

- Waynew, L.G., and G.P. Kubica. 1986. The Mycobacteria. P. 1435-1457. In Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (ed.). Bergey's Manual of Systemic Bacteriology. Vol. 2. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
- Collins, F.M. 1989. Mycobacterial disease. Immunosuppression, and Acquired Immunodeficiency Syndrome. Clin. Microbiol. Rev. 2:360-377.
- Good, R.C. and Snider, D.E. Jr. 1982. J Infect. Dis. 146:829-833.
- Kent, P.T. and 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, GA.
- Kohne, D.E., A.G. Steigerwalt, and D.J. Brenner. 1984. Nucleic acid probe specific for members of the genus Legionella, p. 107-108. In C. Thornsberry, et al. (eds.) Legionella: Proceedings of the 2nd International Symposium, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Centers for Disease Control. 1988. United States Morbid. And Mortal. Weekly Rep. 37:377-382, 387-388.



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



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

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem USA,  
przedstawionym na stronie [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

102897F-01-PL Rev. 003 2018-03

©1991 - 2018 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.