

AccuProbe®

TEST DO IDENTYFIKACJI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX Z KULTURY BAKTERYJNEJ TYLKO DO UŻYTKU NA EXPORT

(bioMérieux ref. 3900 Hologic Cat. No. 102860)

ZASTOSOWANIE

TEST DO IDENTYFIKACJI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX Z KULTURY BAKTERYJNEJ ACCUPROBE jest szybkim testem zawierającym sondę DNA, który wykorzystuje technikę hybrydyzacji kwasów nukleinowych do identyfikacji *Mycobacterium tuberculosis* (TB Complex) wyizolowanego z kultury bakteryjnej. Kompleks *Mycobacterium tuberculosis* składa się z następujących gatunków: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. africanum*, *M. microti* i *M. canettii* (8, 11).

OPIS I WYJAŚNIENIE ZASADY TESTU

Prątki z kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* w znaczący sposób są odpowiedzialne za wysoką zachorowalność i śmiertelność u ludzi i są najbardziej pospolitym patogenem spośród kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* izolowanym od ludzi. W 1988 r. /2/ było zgłoszonych 21 244 nowych przypadków gruźlicy. *M. bovis BCG* mogą przenosić na człowieka zakażone zwierzęta (6).

M. africanum jest przyczyną gruźlicy płuc w tropikalnej Afryce (9), a *M. microti* głównie jest przyczyną zakażenia zwierząt. Gruźlica jest chorobą wysoce zakaźną, dlatego bardzo istotne jest szybkie zdiagnozowanie tej choroby. Dla większości laboratoriów klinicznych wystarczającym zadaniem jest wyizolowanie *Mycobacterium tuberculosis complex* ponieważ prawdopodobieństwo, że wyizolowany szczep jest inny niżeli *M. tuberculosis* jest znikome. (5, 6, 10). Jeżeli jest konieczne różnicowanie gatunku w obrębie kompleksu *Mycobacterium tuberculosis*, zaleca się wykonanie testów biochemicznych. Klasyczne metody identyfikacji mykobakterii opierają się na barwieniu preparatów w kierunku obecności prątków kwasoopornych uzyskanych z hodowli oraz na testach biochemicznych. Te standardowe metody wymagają ponad dwóch miesięcy do określenia wyizolowanego szczepu (3).

TEST DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX ACCUPROBE identyfikuje izolowany z hodowli TB Complex w czasie krótszym niżeli jedna godzina.

ZASADY TESTU

Testy hybrydyzacji kwasów nukleinowych są oparte na zdolności specyficznego łączenia się komplementarnej nici kwasu nukleinowego w stabilne dwuniciowe kompleksy (4). 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 różnicowanie niezhybrydyzowanej i zhybrydyzowanej sondy. Znakowane hybrydy DNA:RNA są oznaczane w luminometrze Hologic. Pozytywny wynik jest odczytywany w luminometrze jako równy lub wyższy niżeli 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.

Odczynniki do TESTU DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX ACCUPROBE są dostarczane w trzech oddzielnych zestawach:

ZESTAW ZAWIERAJĄCY SONDĘ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX ACCUPROBE

Odczynnik Zawierający Sondę (P)	(4 x 5 próbek)
<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i> .	
Probówki do Lizy (LT)	(1 x 20 próbek)
Perłki 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. Zastosować powszechnie stosowane środki ostrożności podczas wykonywania tego testu (1).
- C. Stosować wyłącznie do identyfikacji TB complex wyizolowanego z kultury.
- D. Należy używać wyłącznie dostarczonych lub specyficznych dla pracy laboratorium wyrobów jednorazowych.
- E. Przesiewy z hodowli i wszystkie procedury 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 reakcji.
- G. Należy unikać kontaktu Odczynników do Detekcji I i II ze skórą, oczami i błonami śluzowymi.

OSTRZEŻENIE: PRODUKT ŻRĄCY. Jeżeli dojdzie do kontaktu z tymi odczynnikami należy przemyć miejsce kontaktu 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. od 2° do 8°C. Probówki z Odczynnikiem z Sondą, jeżeli saszetki nie były otwierane, zachowują stabilność zgodnie z datą ważności.

Raz otwarta saszetka powinna być ponownie szczelnie zamknięta, a probówki powinny być zużyte w okresie dwóch miesięcy i przed upływem daty ważności.

Inne odczynniki używane w TEŚCIE DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX ACCUPROBE mogą być przechowywane w temp. od 2° do 25°C i zachowują stabilność zgodnie z datą ważności.

NIE ZAMRAŻAĆ ODCZYNNIKÓW.

POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK

TEST DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX ACCUPROBE jest przeznaczony do identyfikacji TB complex izolowanego z kultury.

- A. **Hodowla na podłożu stałym.** Wzrost uzyskany na podłożach stałych, takich jak: skosy Lowensteina-Jensena, Middlebrooka 7H10 lub na płytkach 7H11, wizualnie przypominający TB complex należy poddać badaniu. Próbkę mogą być badane bezpośrednio po zaobserwowaniu wzrostu oraz podczas następnym sześćdziesięciu dni inkubacji.
 1. Wzrost należy zebrać 1 µL jednorazową plastikową eżą, metalową eżą lub plastikową igłą. Nie należy używać wymazówek, z uwagi na zbyt małą objętość cieczy, w której znajdują się komórki.
 2. Należy 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 1o McFarlanda standardu nefelometrycznego może być badany TESTEM DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX ACCUPROBE. Należy pobrać pipetą 100 µL próbki z dobrze wymieszanej zawiesiny bulionowej i przenieść do Probówki z Odczynnikiem do Lizy, jak opisano poniżej.

DOSTARCZONE MATERIAŁY

The ACCUPROBE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST

(Hologic Cat. No. 102860)

20 Testów

Odczynnik Zawierający Sondę(P)

4 x 5 probówek

Probówki do Lizy (LT)

1 x 20 probówek

MATERIAŁY WYMAGANE ALE NIE DOSTARCZONE W ZESTAWIE

1 µL plastikowe sterylne ezy do posiewów, ezy metalowe lub plastikowe igły do selekcji kolonii .

Szczepy do Kontroli Hodowli

Łaźnia wodna lub sucha łaźnia* (59.5° to 61°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

*Bloki grzejne 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

(Hologic Kat. No. 103100i)

Hologic Sonikator

(Hologic Kat. No. 901104)

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT

(Hologic Kat. No. 102800)

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT

(Hologic Kat. No. 201791)

Sucha łaźnia (59.5° to 61°C)

Sucha łaźnia ($95^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$)

Sucha łaźnia ($59.5^{\circ} - 61^{\circ}/95^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$)

Hologic Statyw do sonikatora
(Hologic Kat. 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 wodą, tak aby do górnej krawędzi pozostało $\frac{1}{2}$ cala /około 1,20 cm/
 - b. Uruchomić sonikator na 15 min. w celu dokładnego odgazowania wody.
2. Dostosować jeden blok grzejny lub łaźnię wodną do temp. $59,5^{\circ}$ do 61°C i następny blok grzejny lub łaźnię wodną do temp. $95^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
3. Przygotować luminometr Hologic Leader do pracy. Upewnić się, że jest wystarczająca ilość Odczynników do Odczytu I i II do wykonania testów.

B. SZCZEPY KONTROLNE

Szczepy używane do kontroli pozytywnej i negatywnej powinny być zbadane rutynowo w każdym laboratorium zgodnie z miejscowymi przepisami. Hodowla *Mycobacterium tuberculosis* (np. American Type Culture Collection, ATCC # 25177) może być używana jako kontrola pozytywna, natomiast hodowla *Mycobacterium avium* (np. ATCC # 25291) może być używana jako kontrola negatywna.

C. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

1. Oznaczyć odpowiednim numerem próbówki z Odczynnikami do Lizy (Lysing Reagent Tubes) przeznaczone do badania wyizolowanych hodowli i/lub kontroli. Zdjąć i zatrzymać koreczki.
2. Odpipetować 100 μL Odczynnika 1 (Odczynnik do Lizy) i 100 μL Odczynnika 2 (Bufor do Hybrydyzacji) do wszystkich Probówek z Odczynnikami do Lizy. **Jeżeli będzie badana hodowla bulionowa, nie należy dodawać Odczynnika 1 do Probówek z Odczynnikami do Lizy.**
3. Przenieść próbkę szczepu ze stałego podłoża lub 100 μL dobrze wymieszanej hodowli bulionowej do oznaczonych Probówek z Odczynnikami do Lizy tak, jak to opisano w dziale POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK. Ruchem wirowym zamieszać ęzą 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 Odczynnikami do Lizy i krótko wymieszać mieszadłem Vortex.

D. LIZA PRÓBEK

1. Wcisnąć Probówki z Odczynnikami do Lizy 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 PRÓBÓWKI DOTYKAŁY DNA LUB ŚCIANEK SONIKATORA.**
2. Sonikować przez 15 minut.
3. Umieścić Probówki z Odczynnikami 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 Odczynnikami 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 Odczynnikami zawierającym Sondę przeznaczonych do zbadania izolatów z hodowli i/lub kontroli. Zdjąć i zachować koreczki.
3. Odpipetować 100 μL zlizowanych próbek z Probówek z Odczynnikami Lizującym do odpowiednich Probówek zawierających Sondę.
4. Zamknąć Probówki z Odczynnikami z Sondą i inkubować przez 15 min. w temp. od 59.5° do 61°C (7) w łaźni wodnej lub bloku grzejnym.

F. SELEKCJA

1. Wyjąć Probówki z Odczynnikami z Sondą z łaźni wodnej lub z bloku grzejnego. Zdjąć i zachować koreczki. Odpipetować 300 μL Odczynnika 3 (Odczynnik do Selekcji) do każdej próbówki. Zamknąć próbówki i dokładnie je wymieszać mieszadłem Vortex.
2. Inkubować Probówki z Odczynnikami z Sondą przez 10 minut w temp. od 59.5° do 61°C w łaźni wodnej lub bloku grzejnym.
3. Wyjąć Probówki z Odczynnikami z Sondą z łaźni wodnej lub bloku grzejnego i pozostawić je w temp. pokojowej przez 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, należy wytrzeć każdą próbówkę 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 (Hybridization Buffer) może się wytrącić. Podgrzewanie i mieszanie roztworu w temp. od 35° do 60°C pozwoli na rozpuszczenie 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: Reakcje 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 10 minut, ale nie dłużej niż 11 minut.
- D. ŁAŹNIA WODNA: Poziom wody w łaźni wodnej powinien być utrzymywany tak, aby zapewnić zanurzenie Probówek z Odczynnikami Lizującymi (Lysing Reagent Tubes), jednak nie powinien sięgać powyżej zaznaczonego poziomu. Należy również zapewnić całkowite zanurzenie w wodzie płynnej części reakcyjnej Probówek Zawierających Sondę.
- E. WYTRZĄSANIE: Bardzo istotnym elementem 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 (*Mycobacterium avium* ATCC #25291) 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 wymieszanym próbki po dodaniu Odczynnika 3. (Odczynnik do Selekcji) lub na skutek odcięcia, są uznawane jako dodatnie. Próbki emitujące sygnały poniżej tych punktów odcięcia /cut-off/ są uznawane jako ujemne. Wyniki w powtarzających się zakresach powinny być powtórzone.
 2. Niskie wartości kontroli pozytywnej (*M. tuberculosis* ATCC # 25177) poniżej 30,000 RLU w LUMINOMETRZE Leader lub 900 PLU w aparacie AccuLDR (poprzednio PAL) może być spowodowane niewystarczającą liczbą komórek, niewłaściwą sonikacją lub badaniem mieszanych albo starych hodowli. Ze względu na możliwość występowania mieszanych hodowli, część wzrostu należy przesłać na odpowiednie podłoże agarowe i inkubować w celu sprawdzenia namnożonych typów kolonii.

WYNIKI

A. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wyniki TESTU DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX ACCUPROBE opierają się na następujących wartościach punktów odcięcia /cut-off/. Próbki emitujące sygnały wyższe lub równe wartościom punktów odcięcia, są uznawane jako dodatnie. Próbki emitujące sygnały poniżej tych punktów odcięcia /cut-off/ są uznawane jako ujemne. Wyniki w powtarzających się zakresach powinny być powtórzone.

	AccuLDR (poprzednio PAL)	Leader
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. avium*, ATCC # 25291) i kontrola pozytywna (np., *M. tuberculosis*, ATCC # 25177) powinny wykazywać następujące wartości:

	AccuLDR (poprzednio PAL)	Leader
Kontrola negatywna	< 300 PLU	< 10,000 RLU
Kontrola pozytywna	> 900 PLU	> 30,000 RLU

OGRANICZENIA

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

TEST ACCUPROBE DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX nie posiada zdolności różnicowania gatunków w obrębie TB complex, np., *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. microti*, i *M. canetti*. Odczynnik zawierający Sondę nie wchodzi w reakcję z żadną z mykobakterii z grupy MOTT. Wyniki Testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX DO IDENTYFIKACJI KULTURY powinny być interpretowane w zestawieniu z innymi laboratoryjnymi i klinicznymi wynikami dostępnymi dla klinicysty.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

TEST ACCUPROBE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX DO IDENTYFIKACJI KULTURY był porównywany w dwóch ośrodkach do standardowych metod biochemicznych stosowanych do identyfikacji kultury przy użyciu ogółem 612 izolatów TB Complex, 748 izolatów z 28 innych gatunków *Mycobacterium*, i 7 innych izolatów bakteryjnych należących do jednego rodzaju. Standardowa

identyfikacja kultury jest uzależniona od tempa wzrostu, morfologii kolonii, obrazu mikroskopowego oraz wyników biochemicznych. Izolaty były zaklasyfikowane jako pozytywne ($\geq 30,000$ RLU) lub negatywne ($< 30,000$ RLU). Zakres wyników dla kultur negatywnych wynosił od 226 do 33,343 RLU i od 4,163 do 646,053 RLU dla kultur pozytywnych. Poniżej przedstawiono porównanie uzyskanych wyników do standardowej metody hodowlanej.

AccuProbe Hodowla	ACCUPROBE / IDENTYFIKACJA KULTURY/				Czułość/ Specyficzność	Procent Zgodność
	Poz Poz	Poz Neg	Neg Poz	Neg Neg		
Ośrodek 1	422	1	1	541	99.8%/99.1%	99.8%
Ośrodek 2	185	0	4	213	98.9%/100%	99.0%
Ogółem	607	1	5	754	99.2%/99.9%	99.6%

Po powtórnych przebadaniu niezgodnych próbek, otrzymano prawidłowe wyniki za wyjątkiem jednego szczepu wyizolowanego z Ośrodka 2, którego komórki były martwe.

CHARAKTERYSTYKA PROCESÓW

A. POWTARZALNOŚĆ

Powtarzalność przebiegu procesu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX TESTU DO IDENTYFIKACJI KULTURY obliczano na podstawie analizy dwóch stężeń rybosomalnego RNA wyizolowanego z *Mycobacterium tuberculosis* stosując 10 powtórzeń dla pojedynczego oznaczenia.

Próbka	A	B
Liczba powtórzeń	10	10
Średnia wartość impulsu	51,939	126,563
Odchylenie standardowe	1,980	5,869
Współczynnik zmienności	3.8%	4.6%

B. ODTWARZALNOŚĆ

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

Próbka	A	B
Liczba powtórzeń	12	12
Średnia wartość impulsu	51,522	126,227
Odchylenie standardowe	1,952	4,575
Współczynnik zmienności	3.8%	3.6%

C. SWOISTOŚĆ

Wszystkie izolowane hodowle szczepu 94 ATCC były oceniane przy użyciu TESTU DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX ACCUPROBE. Te izolaty reprezentowały 92 gatunki z 40 rodzajów.

Przy pomocy testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST oznaczono sześć izolatów TB Complex (*M. africanum*, *bovis*, *M. microti* i *M. tuberculosis*), 25 izolatów innych gatunków *Mycobacterium* i 63 izolaty z 39 innych rodzajów reprezentujących przekrój filogenetyczny organizmów.

Wszystkie izolaty TB complex badane TESTEM DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

COMPLEX ACCUPROBE dawały pozytywną reakcję. Inne gatunki *Mycobacterium* oraz izolaty spokrewnione filogenetycznie nie reagowały w tym teście.

D. ODZYSKIWANIE

Rybosomalny RNA *Mycobacterium tuberculosis* w stężeniu od 5×10^{-4} μg do 1×10^{-1} μg na jeden test było analizowane w obecności 30 milionów komórek któregoś z, *M. avium*, *M. kansasii* lub *Nocardia asteroides*.

Nie zaobserwowano interferencji między sygnałem *M. tuberculosis* i innymi badanymi organizmami w TEŚCIE ACCUPROBE DO IDENTYFIKACJI KULTURY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX.

BIBLIOGRAFIE

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. **Baess, I.** 1979. Deoxyribonucleic acid relatedness among species of slowly-growing mycobacteria. ACTA Path. Microbiol. Scand. Sect. B. **87**:221-226.
3. **Butler, W.R., and J.O. Kilburn.** 1988. Identification of major slowly growing pathogenic mycobacteria and *M. gordonae* by high performance liquid chromatography of their mycolic acids. J. Clin. Microbiol. **26**:50-53.
4. **Centers for Disease Control.** 1988. United States Morbid. And Mortal. Weekly Rep. **37**:377-382, 387-388.
5. **Drake, T.A., J.A. Hindler, G.WI Berlin, and D.A. Bruckner.** 1987. Rapid identification of *M. avium* complex in culture using DNA probes. J. Clin. Microbiol. **25**:1442-1445.
6. **Ellner, P.D., T.E. Kiehn, R. Cammarata, and M. Hosmer.** 1988. Rapid detection and identification of pathogenic mycobacteria by combining radiometric and nucleic acid probe methods. J. Clin. Microbiol. **26**:1349-1352.

7. **Gonzalez, R. And B.A. Hanna.** 1987. Evaluation of Hologic DNA hybridization systems for the identification of *M. tuberculosis* and *M. avium-intracellulare*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **8**:69-77.
8. **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.
9. **Kiehn, T.E. and 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.
10. **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.* (ed.) *Legionella: proceedings of the 2nd international symposium*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. **Musial, C.E., L.S. Tice, L. Stockman, and G.D. Roberts.** 1988. Identification of Mycobacteria from culture by using the Hologic rapid diagnostic system for *M. avium* complex and *M. Tuberculosis* complex. *J. Clin. Microbiol.* **26**:2120-2123.
12. **Pitchenik, A.E., D. Fertel, and A.B. Block.** 1988. *Mycobacterial disease: epidemiology, diagnosis, treatment and prevention*. *Clin. Chest. Med.* **9**:425-441.
13. **Saito, H., H. Tomioka, K. Sato, H. Tasaka, and D. Dawson.** 1990. Identification of various serovar strains of *M. avium* and *M. intracellulare*. *J. Clin. Microbiol.* **28**:1694-1697.
14. **Saito, H., H. Tomioka, K. Sato, H. Tasaka, M. Tsukamura, F. Kuze, and K. Asano.** 1989. Identification and partial characterization of *M. avium* and *M. intracellulare* by using DNA probes. *J. Clin. Microbio.* **27**:994-997.
15. **Schaefer, W.B.** 1965. Serologic identification and classification of the atypical mycobacteria by their agglutination. *Am. Rev. Respir. Dis.* **92**(Suppl.):85-93.
16. **Sommers, H.M. and R.C. Good.** 1985. M., p. 261-248. *In* E.H. Lennette, *et al.* (ed.) *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.



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



Emergo Europe
 Prinsessegracht 20
 2514 AP The Hague
 The Netherlands

102896F-01-PL Rev. 002 2017-05

©1990 - 2017 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.