

AccuProbe®

MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST

POUZE PRO EXPORT

(bioMérieux ref. 39004 / Hologic Cat. No. 102840)

PŘEDPOKLÁDANÉ POUŽITÍ

The ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST je rychlá testovací sonda DNA využívající techniku hybridizace nukleových kyselin pro identifikaci *Mycobacterium intracellulare* z kultury.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ TESTU

Mycobacterium intracellulare (*M. intracellulare* je členem rodiny *Mycobacterium avium* komplex (*M. avium* komplex) sestávající z velkého počtu organismů, jejichž taxonomický vztah je nejasný a kontroverzní, ale jejichž patogenita u lidí je nepochybná (16). Bylo prokázáno, že *Mycobacterium intracellulare* způsobuje významné onemocnění u imunokomprimovaných pacientů (12). Léčba této nemoci je obtížná a navíc tato nemoc pro svoji závažnost vyžaduje rychlou diagnostiku. Kromě toho je v některých laboratořích incidence *M. avium* komplex stejná nebo vyšší než incidence *M. tuberculosis*.

Klasické metody identifikace mykobakterií jsou založeny na barvení vzorků na acidorezistentní tyčinky, potom následuje kultivace a biochemické testování. Průkaz *mykobakterií* v klinickém materiálu touto standardní metodou může trvat až dva měsíce (8).

Obecně se má za to, že *M. avium* komplex se skládá ze dvou druhů: *M. avium* a *M. intracellulare*. Fenotypicky jsou *M. avium* a *M. intracellulare* téměř nerozlišitelné a ani biochemické testy nejsou schopny je rozlišit.

Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) má význam pro identifikaci *M. avium* a *M. intracellulare* (3), je však časově náročná a v mnoha klinických laboratořích není přímo dostupná.

Sérologie se rovněž používá pro rozlišení kmenů *M. avium* a *M. intracellulare* s použitím using α -antigenního séra a může mít význam v epidemiologických studiích. Průkaz sérotypů však není obecně dostupný a při léčbě pacientů má jen omezené použití. V současné době existuje 28 obecně uznávaných sérotypů v rámci *M. Avium* komplex a v různých časech byly určeny různé sérotypy jednotlivých druhů *M. avium* a *M. intracellulare*. Historicky se považují sérotypy 1 až 3 za *M. avium*, zatímco sérotypy 4 až 28 za *M. intracellulare* (15).

Baess využila v několika studiích hybridizaci DNA:DNA pro potvrzení taxonomických vztahů mezi těmito dvěma druhy. Na základě těchto analýz učinila závěr, že sérotypy 4, 5, 6 a 8, které byly v té době klasifikovány jako *M. intracellulare*, patří ve skutečnosti mezi druh *M. avium*. Status sérotypu 9 byl nejasný (1, 2).

Saito a kol. využili technologii sondy DNA a navrhli určit 28 daných sérotypů takto: sérotypy 1 až 6, 8 až 11 a 21 jako *M. avium*; sérotypy 7, 12 až 20 a 25 jako *M. intracellulare*, sérotypy 22 až 28 (s výjimkou sérotypu 25) byly považovány za heterogenní a nebylo je možné přiřadit k žádnému druhu (13). Kromě toho u některých kmenů se nepodařilo určit sérotyp a několik aglutinovalo ve více než jednom antiséru.

Byly rovněž publikovány jiné studie využívající sondy DNA pro rozlišení v rámci komplexu *Mycobacterium avium*, včetně použití sond DNA pro epidemiologické studie a geografické rozdělení *M. avium* a *M. intracellulare* (5-7, 9, 11, 14).

Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST identifikuje *M. intracellulare* z kultury za méně než hodinu od přípravy vzorku. Identifikace je založena na detekci specifických sekvencí ribosomální RNA, které jsou charakteristické pro *M. intracellulare*. Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST představuje rychlý, objektivní a přesný způsob identifikace *M. intracellulare* izolovaného z kultury.

PRINCIPY POSTUPU

Testy hybridizace nukleových kyselin jsou založeny na schopnosti komplementárních vláken nukleových kyselin se specificky řadit a vytvářet stabilní dvouvláknové komplexy (10). Systém AccuProbe používá jednovláknovou sondu DNA s chemiluminiscenčním značením, která je komplementární ribosomální RNA cílového organismu. Poté, co se ribosomální RNA uvolní z organismu, spojí se značená sonda DNA s ribosomální RNA cílového organismu a vytvoří se stabilní hybrid DNA:RNA. Volba činidla umožňuje rozlišení nehybridizované a hybridizované sondy. Značené hybridy DNA:RNA se měří v luminometru Hologic. Pozitivní výsledek je takový, kdy je pomocí luminometru odečtena hodnota stejná nebo vyšší než mezní hodnota. Hodnota nižší než mezní hodnota představuje negativní výsledek.

ČINIDLA

Poznámka: Informace o H-větvách a P-větvách, které mohou být spojeny s reagensy, naleznete v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologic.com/sds.

Činidla pro ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST se dodávají ve třech samostatných kitech:

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE PROBE KIT

Činidlo pro sondu (P) <i>Mycobacterium intracellulare</i>	(4 x 5 zkumavek)
Lyzující zkumavky (LT) Skleněné kuličky a pufr	(1 x 20 zkumavek)

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT

Činidlo 1 (Lyzující činidlo) (1) pufrovaný roztok obsahující 0,04% azidu sodného.	1 x 10 mL
Činidlo 2 (Hybridizační pufr) (2) pufrovaný roztok.	1 x 10 mL
Činidlo 3 (Selekční činidlo) (3) pufrovaný roztok.	1 x 60 mL

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT

Detekční činidlo I (RI) 0,1% peroxid vodíku v 0,001 N kyselině dusičné.	1 x 240 mL
Detekční činidlo II (RII) 1 N hydroxid sodný.	1 x 240 mL

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

- Pro diagnostické použití in vitro.**
- Při provádění této zkoušky zachovávejte obecná opatření (4).
- Používejte pouze k identifikaci *Mycobacterium intracellulare* izolované z kultury.
- Používejte pouze dodávané nebo specifikované jednorázové laboratorní pomůcky.
- Zacházení s kulturami a všechny kroky postupu až do kroku inaktivace zahříváním je nutno provádět v laboratoři vybavené na 2.stupeň biologické bezpečnosti.
- Činidla kitu obsahují azid sodný, který může reagovat s olověným nebo měděným potrubím za vzniku výbušných azidů kovů. Pokud se likviduje jakákoli kapalina obsahující azid sodný do výlevky, je nutno ji propláchnout vodou, aby se zabránilo jejímu hromadění.

- G. Nevystavujte pokožku, oči a sliznice styku s detekčním činidlem I a II. V případě styku s těmito činidly umyjte příslušné místo vodou. Pokud dojde k rozliti těchto činidel, rozředte je vodou předtím, než místo otřete dosucha.

PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ A ZACHÁZENÍ

Zkumavky s činidly sondy se musí skladovat ve foliovém pouzdru při teplotě 2° až 8°C. Zkumavky s činidly sondy jsou stabilní v uzavřených pouzdrech až do data expirace vyznačeného na obalu. Po otevření je nutno pouzdro opět uzavřít a zkumavky je třeba použít do dvou měsíců, nejpozději do data expirace vyznačeného na obalu.

Další činidla přítomná v ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST lze skladovat při teplotě 2° až 25°C, ve které jsou stabilní až do data expirace vyznačeného na obalu.

NEZMRAZUJTE ČINIDLA.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST je určen k identifikaci *Mycobacterium intracellulare* izolovaného z kultury.

- A. **Metoda kultivace na pevném médiu.** Předpokládaný růst *Mycobacterium intracellulare* lze testovat na vhodném pevném médiu, jako jsou Lowenstein-Jensenův šikmý agar nebo plotny Middlebrook 7H10 nebo 7H11. Vzorky lze testovat jakmile je růst viditelný a během následujících šedesáti dnů inkubace.
1. Vyrostlé kultury lze nabrat plastovou jednorázovou kličkou o objemu 1 µl, drátěnou kličkou nebo jednorázovou plastovou jehlou. Tampóny nelze používat, protože se buňky následně resuspendují v malém objemu kapaliny.
 2. Nenaberte s buňkami pevné médium.
 3. Současně je možné inokulovat jinou kultivační plotnu, aby se potvrdila čistota izolátu.
- B. **Metoda kultivace v bujónu.** Pomocí testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST lze testovat růst v bujónu Middlebrook 7H9 se základem rovným nebo větším než 1 dle McFarlanda. Napipetujte 100 µL vzorku z dobře promíchané suspenze bujónu do zkumavky s lyzujícím činidlem, jak je popsáno dále.

DODÁVANÉ MATERIÁLY

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST
(bioMérieux ref. 39004 / Hologic Cat. No. 102840)

20 testů

Činidlo pro sondu (P) 4 x 5 zkumavek
Lyzující zkumavky (LT) 1 x 20 zkumavek

POTŘEBNÉ ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

plastové sterilní inokulační kličky o objemu 1 µL, drátěné kličky nebo plastové jehly pro selekci kolonií
kmeny pro kontrolu kultivace
vodní lázeň nebo lázeň se suchým teplem* (60° ± 1°C)
vodní lázeň nebo lázeň se suchým teplem * (95° ± 5°C)
mikropipety (100 µL, 300 µL)
re-pipetor (100 µL, 300 µL)
mísidlo typu Vortex
1 nefelometrický standard McFarlanda

*Zahřívací tělesa u lázně se suchým teplem musí mít jamky s velikostí odpovídající zkumavkám o rozměrech 12 x 75 mm. Doporučuje se použití lázně se suchým teplem Hologic.

DODÁVÁ VÁŠ DISTRIBUTOR HOLOGIC

Luminometr Hologic Leader 50i
(bioMérieux ref. 39400 / Hologic Cat. No. 103100i)
Kit činidel ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION
(bioMérieux ref. 39305 / Hologic Cat. No. 102800)
Kit činidel HOLOGIC DETECTION (1200 testů)
(bioMérieux ref. 39300 / Hologic Cat. No. 201791)
Lázeň se suchým teplem (60° ± 1°C)
(bioMérieux ref. 39406)
Lázeň se suchým teplem (95° ± 1°C)
(bioMérieux ref. 39407)
Lázeň se suchým teplem Twin (60°/95° ± 1°C)
(bioMérieux ref. 39408)
Sonikátor Hologic
(bioMérieux ref. 39409 / Hologic Cat. No. 901104)
Držák sonikátoru Hologic
(bioMérieux ref. 39313 / Hologic Cat. No. 104027)

POSTUP TESTU

A. PŘÍPRAVA VYBAVENÍ

1. Pro optimální přenos zvukové energie se musí voda pečlivě zbavit plynů následujícím postupem:
 - a. Přidejte dostatečné množství horké vody, aby se lázeň sonikátoru naplnila asi 1 cm pod horní okraj nádoby.
 - b. Nechte sonikátor běžet 15 minut aby se z vody úplně odstranily plyny.
2. Upravte teplotu jednoho topného tělesa nebo vodní lázně na 60° ± 1°C a teplotu druhého topného tělesa nebo vodní lázně na 95° ± 5°C.
3. Připravte k činnosti luminometr Hologic. Ujistěte se, že je k dispozici dostatečný objem detekčních činidel I a II k dokončení testů.

B. KONTROLY

1. Pozitivní a negativní kontrolní kmeny se musí rutinně testovat v každé laboratoři v souladu s místními předpisy. Jako pozitivní kontrolu lze použít kulturu *M. intracellulare* (např. American Type Culture Collection, ATCC #13950) a jako negativní kontrolu lze použít kulturu *M. avium* (např. ATCC #25291).

C. PŘÍPRAVA VZORKU

1. Označte dostatečný počet zkumavek s lyzujícím činidlem pro testování izolátů kultury a/nebo kontrol. Sejměte víčka a uschovejte je.
2. Napipetujte 100 µL činidla 1 (lyzující činidlo) a 100 µL činidla 2 (hybridizační pufr) do všech zkumavek s lyzujícím činidlem. **Pokud se mají testovat bujónové kultury, nepřidávejte do zkumavek s lyzujícím činidlem činidlo 1.**
3. Přeneste vzorek z pevného média nebo 100 µL dobře promíchané bujónové kultury do označených zkumavek s lyzujícím činidlem, jak je popsáno v části ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU. Pokud testujete růst na pevném médiu, ponořte kličku nebo jehlu do směsi rozpouštědel činidla 1 a činidla 2, aby se z ní odstranily buňky.
4. Opět přikryjte zkumavky s lyzujícím činidlem víčkem a krátce je promíchejte mísidlem typu Vortex.

D. LÝZA VZORKU

1. Zatlačte zkumavky s lyzujícím činidlem do držáku sonikátoru tak, aby reakční směs na dně zkumavky byla ponořena, ale víčka byly nad vodou. Umístěte držák sonikátoru do vodní lázně sonikátoru. **DEJTE POZOR, ABY SE ZKUMAVKY NEDOTÝKALY DNA NEBO STRAN SONIKÁTORU.**
2. Podrobte působení ultrazvuku po dobu 15 minut.

3. Umístěte zkumavky s lyzujícím činidlem, obsahující organismy podrobené působení ultrazvuku do zahřívacího bloku nebo vodní lázně po dobu 10 minut při teplotě $95^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
4. Pečlivě vyjměte zkumavky s lyzujícím činidlem ze zahřívacího bloku nebo vodní lázně.

E. HYBRIDIZACE

1. Otevřete pouzdro z folie rozříznutím horní části pouzdra. Vyjměte dostatečné množství zkumavek s činidlem pro sondu pro testování izolátů kultury a/nebo kontrol. Uzavřete pouzdro několikerým přehnutím otevřeného konce a zabezpečte jej přílnavou páskou nebo svorkou. **V pouzdře ponechte desikantem.**
2. Označte dostatečný počet zkumavek s činidlem pro sondu pro testování izolátů kultury a/nebo kontrol. Sejměte víčka a uschovejte je.
3. Napipetujte 100 μL lyzovaných vzorků ze zkumavek s lyzujícím činidlem do příslušných zkumavek s činidlem pro sondu.
4. Opět přikryjte zkumavky s činidlem pro sondu víčkem a inkubujte je ve vodní lázni nebo zahřívacím bloku po dobu 15 minut při teplotě $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

F. SELEKCE

1. Vyjměte zkumavky s činidlem pro sondu z vodní lázně nebo zahřívacího bloku. Sejměte víčka a uschovejte je. Do každé zkumavky napipetujte 300 μL činidla 3 (selekční činidlo). Opět přikryjte zkumavky víčkem a úplně je promíchejte mísidlem typu Vortex.
2. Inkubujte zkumavky s činidlem pro sondu po dobu 5 minut při teplotě $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ve vodní lázni nebo zahřívacím bloku.
3. Vyjměte zkumavky s činidlem pro sondu z vodní lázně nebo zahřívacího bloku a ponechte je při teplotě místnosti po dobu alespoň 5 minut. Sejměte víčka a odložte je. **Během 1 hodiny od vyjmutí z vodní lázně nebo zahřívacího bloku odečtete výsledky v luminometru.**

G. DETEKCE

1. Z menu obsaženého v software luminometru zvolte vhodný protokol.
2. Navlhčenou tkaninou nebo papírovým kapesníčkem utřete každou zkumavku, aby se zajistilo, že na jejím povrchu není přítomno žádné reziduum a vložte zkumavku do luminometru podle pokynů dodávaných s přístrojem.
3. Po dokončení analýzy vyjměte zkumavku (zkumavky) z luminometru.

POZNÁMKY K POSTUPU

- A. ČINIDLA: Činidlo 2 (hybridizační pufr) může precipitovat. Zahříváním a promícháváním roztoku při teplotě $35^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$ se precipitát rozpustí.
- B. TEPLOTA: Hybridizační a selekční reakce jsou závislé na teplotě. Proto je důležité udržovat teplotu vodní lázně nebo zahřívacího bloku ve vymezeném rozmezí.
- C. DOBA: Hybridizační a selekční reakce jsou závislé na čase. Hybridizujte alespoň 15 minut, ne však déle než 20 minut. Inkubujte zkumavky s činidlem pro sondu během kroku SELEKCE alespoň 5 minut, ne však déle než 6 minut.
- D. VODNÍ LÁZEŇ: Je nutno udržovat hladinu vody ve vodní lázni, aby zkumavky s lyzujícím činidlem byly ponořeny do úrovně kruhového uzávěru, nikoli nad něj. Rovněž je nutno zajistit, aby objem vlastního reakčního činidla ve zkumavkách s činidlem pro sondu byl ponořen.
- E. MÍCHÁNÍ: během kroků PŘÍPRAVY VZORKU a SELEKCE má zásadní význam udržovat směs homogenní, zejména po přidání buněk do činidel 1 a 2 a po přidání činidla 3.
- F. ODSTRAŇOVÁNÍ PORUCH:
 1. Zvýšené hodnoty negativní kontroly (M. avium, ATCC #25291) vyšší než 10,000 RLU (Relative Light Units) v Leader nebo 300 PLU (Photometric Light Units) v AccuLDR (dříve PAL) mohou být způsobeny nedostatečným mícháním po přidání činidla 3 (selekční činidlo) nebo testováním smíšených kultur. Protože se mohou vyskytnout smíšené kultury, je třeba část vyrostlé kultury naočkovat na vhodné agarové médium a inkubovat, aby se provedla kontrola čistoty kolonií.

2. Nízké hodnoty pozitivní kontroly (*M. intracellulare*, ATCC #13950) nižší než 30,000 RLU v Leader nebo 900 PLU v AccuLDR (dříve PAL) mohou být způsobeny nedostatečným množstvím buněk, nedostatečnou sonikací nebo starými kulturami. Protože se mohou vyskytnout smíšené kultury, je třeba část vyrostlé kultury naočkovat na vhodné agarové médium a inkubovat, aby se provedla kontrola čistoty kolonií.

VÝSLEDKY

A. INTERPRETACE VÝSLEDKU

Výsledky ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST jsou založeny na následujících kritických hodnotách. Vzorky vytvářející signál větší nebo rovný těmto kritickým hodnotám se považují za pozitivní. Vzorky vytvářející signál nižší než kritické hodnoty se považují za negativní. Výsledky v rozmezí, ve kterém je třeba zkoušku provést znovu, je třeba opakovat.

	AccuLDR (dříve PAL)	Leader
Kritická hodnota	900 PLU	30,000 RLU
Rozmezí pro opakování	600-899 PLU	20,000-29,999 RLU

B. KONTROLA KVALITY A PŘIJATELNOST VÝSLEDKU

Negativní kontrola (např. *M. avium*, ATCC #25291) a pozitivní kontrola (např. *M. intracellulare*, ATCC #13950)

musí mít následující hodnoty:

	AccuLDR (dříve PAL)	Leader
Negativní kontrola	< 300 PLU	< 10,000 RLU
Pozitivní kontrola	> 900 PLU	> 30,000 RLU

OMEZENÍ METODY

Tato metoda byla testována na kulturách čerstvě vyrostlých na pevném médiu a v bujónu uvedených v části ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU. Tento test nebyl použit přímo na klinických vzorcích (např. moč, stolice nebo vzorky z dýchacích cest).

Výsledky z testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST je třeba interpretovat ve spojení s jinými dostupnými laboratorními a klinickými údaji, které má klinika k dispozici.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST byl porovnáván se standardními kultivačními biochemickými identifikačními metodami na dvou místech, místě 1a 2 na celkem 259 kmenech: 109 kmenů *M. intracellulare* a 147 kmenů 19 jiných druhů *mykobakterií*. Standardní kultivační identifikace závisí na rychlosti růstu, morfologii kolonie, mikroskopické morfologii a sérii biochemických reakcí. Kromě toho se na místě 3 srovnával test ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) na 97 kmenech *mykobakterií*. HPLC identifikovala 31 kmenů jako *M. intracellulare*, 36 kmenů jako *M. avium*, a 36 kmenů jako 12 jiných druhů *mykobakterií*. S použitím ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST se izoláty kategorizovaly jako buď pozitivní ($\geq 30,000$ RLU) nebo negativní ($< 30,000$ RLU). Rozmezí hodnot u negativních kultur bylo 266 až 3,405 RLU a u pozitivních kultur 33,851 až 559,708 RLU. Porovnání těchto výsledků se standardními kultivačními identifikačními metodami (místa 1 a 2) a HPLC (místo 3) je uvedeno dále.

AccuProbe Kultivace	ACCUPROBE / KULTIVAČNÍ A HPLC IDENTIFIKACE				Citlivost / Specificita	Procento Shoda
	Poz Poz	Poz Neg	Neg Poz	Neg Neg		
Místo 1	28	0	0	50	100% / 100%	100%
Místo 2	81	0	0	100	100% / 100%	100%
Místo 3	31	0	0	66	100% / 100%	100%
Celkem	140	0	0	216	100% / 100%	100%

CHARAKTERISTIKY STANOVENÍ

A. PŘESNOST UVNITŘ BĚHU

Přesnost uvnitř běhu testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST byla vypočtena zkoušením dvou koncentrací ribosomální RNA izolované z *M. intracellulare* s použitím 10 replikátů v jedné zkoušce.

Vzorek	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	
	A	B
Počet replikátů	10	10
Střední hodnota odpovědi	39,179	71,587
Standardní odchylka	764	2,123
Koeficient variace	2,0%	3,0%

B. PŘESNOST MEZI BĚHY

Přesnost mezi běhy byla vypočtena zkoušením stejných dvou koncentrací ribosomální RNA izolované z *M. intracellulare* s použitím jednoho určení ve 12 po sobě jdoucích bězích.

Vzorek	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	
	A	B
Počet replikátů	12	12
Střední hodnota odpovědi	37,541	72,189
Standardní odchylka	3,318	4,352
Koeficient variace	8,8%	6,0%

C. SPECIFICITA

Bylo hodnoceno celkem 106 kmenů ATCC kultur s použitím ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST. Tyto izoláty představovaly celkem 91 druhů 39 rodů. Použitím testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST bylo určeno pět kmenů *M. intracellulare*, 37 kmenů 25 jiných druhů *mykobakterií* a 64 kmenů 38 jiných rodů představujících fylogeneticky zkřížené organismy. Pouze kmeny *M. intracellulare* poskytly v této studii pozitivní výsledky pomocí ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST. Jiné druhy *mykobakterií* a jiné fylogeneticky zkřížené druhy s tímto kitem nereagovaly.

D. ZÁCHYT

Ribosomální RNA *M. intracellulare* v koncentracích v rozmezí od $5 \times 10^{-4} \mu\text{g}$ a $1 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ na test se zkoušela v přítomnosti 15 milionů buněk buď *M. tuberculosis*, *M. simiae* nebo *Nocardia asteroides*. Nebyl pozorován žádný interferující signál vůči *M. intracellulare* a jiné přítomné organismy nereagovaly v testu ACCUPROBE MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE CULTURE IDENTIFICATION TEST.

LITERATURA

1. **Baess, I.** 1983. Deoxyribonucleic acid relationships between different serovars of *M. avium*, *M. intracellulare* 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.W. 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.** Rapid detection and identification of pathogenic mycobacteria by combining radiometric and nucleic acid probe methods. J. Clin. Microbio. 26:1349-1352.
7. **Gonzalez, R. And 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.
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 Gen-Probe 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. 28:1694-1997.
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. Microbiol. 27:994-997.
15. **Schaefer, W.B.** 1965. Serologic identification and classification of the atypical mycobacteria by their agglutination. Am. Rev. Respir. Dis. 92(Supl.):85-93.
16. **Sommers, H.M. and R.C. Good.** 1985. M., p. 216-248. 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

102901F-01-CS Rev. 002

©1990 - 2017 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.
2017-06