

VÝZKUMNÝ ČLÁNEK

Open Access

Vyhodnocení testu Capilia TB pro rychlou identifikaci komplexu *Mycobacterium tuberculosis complex* v hemokulturách BACTEC MGIT 960 a BACTEC 9120

Christopher Muchwa¹, Joseph Akol¹, Alfred Etwom¹, Karen Morgan¹, Patrick Orikiriza¹, Francis Mumbowa^{1, 2}, Paul R Odong^{1, 2}, David P Kateete², Kathleen D Eisenach³ a Moses L Joloba^{2*}

Abstrakt

Základy: Capilia TB je jednoduchý imuno-chromatografický test založený na detekci antigenu MPB64 specificky vylučovaného bakteriemi komplexu *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTC). Capilia TB byl oceněn pro rychlou identifikaci MTC ze systémů BACTEC MGIT 960 a BACTEC 9120 v Kampale, v Ugandě. Protože většina studií se zabývala hlavně respiračními vzorky, byla rovněž hodnocena výkonnost Capilia TB na vzorcích hemokultur.

Metody: V automatizovaných hemokultivačních systémech BACTEC MGIT 960 a BACTEC 9120 byl kultivován jeden tisíc (1000) vzorků suspektní plicní a diseminované tuberkulózy (TBC) přijatých na oddělení kliniky JCRC a oddělení TBC v nemocnici Old Mulago v Kampale, v Ugandě. BACTEC-pozitivní vzorky byly testovány na čistotu sub-kultivací na destičkách krevního agaru. Pomocí Capilia TB a in-house PCR testů bylo analyzováno dvě stě padesát tři (253) vzorků s Acid Fast Bacilli (acidorezistentní bacily) (AFB, 174 BACTEC MGIT 960 a 79 Bactec 9120 hemokultury) na přítomnost MTC.

Výsledky: Hodnoty celkové senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty, a Kappa statistiky pro test Capilia TB pro identifikaci MTC byly 98,4 %, 97,6 %, 97,7 %, 98,4 % a 0,96 v uvedeném pořadí. Zpočátku byl výkon in-house PCR na Bactec 9120 hemokulturách chabý (senzitivita, specifita, PPV, NPV a Kappa statistika 100 %, 29,3 %, 7 %, 100 % a 0,04 v uvedeném pořadí), ale zlepšil se po sub-kultivaci na pevném médiu (Middlebrook 7H10) na 100 %, 95,6 %, 98,2 %, 100 % a 0,98 v uvedeném pořadí.

Na rozdíl od toho sensitivita a specifita testu Capilia TB byla 98,4 % a 97,9 % v uvedeném pořadí, jak pro hemokultury BACTEC tak pro vzorky kultivované pomocí Middlebrook 7H10, což odhalilo, že test Capilia test byl pro identifikaci MTC v hemokulturách lepší než in-house PCR. Kromě toho Capilia TB byl levnější než in-house PCR pro jednotlivé vzorky a bylo snazší jej provádět s kratší dobou obrátky (20 min oproti 480 min v uvedeném pořadí).

Závěr: Test Capilia TB je pro rychlou identifikaci MTC z kultivačních systémů BACTEC MGIT 960 a BACTEC 9120 při testování AFB pozitivních kultur v reálném čase rychlejší a levnější než in-house PCR.

poznámka pod čarou

* Korespondence: moses.joloba@case.edu

² Úplný seznam autorských informací Ústav lékařské mikrobiologie, fakulty biomedicínských věd, makererské univerzity lékařských věd (Department of Medical Microbiology, School of Biomedical Sciences, Makerere University College of Health Sciences) v Kampale, v Ugandě je k dispozici na konci tohoto článku.

Základy

Geneticky příbuzné druhy komplexu *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC; *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. caprae* a *M. cannetti*) způsobují tuberkulózu (TBC) [1], globální onemocnění, které postihuje jednu třetinu lidské populace [2, 3]. Tuberkulóza a HIV tvoří smrtící synergii [4] u přibližně 75 % lidí se současnou infekcí (koinfekcí) HIV/TBC žijících v subsaharské Africe [2, 5]. Z 22 zemí s vysokým výskytem TB je Uganda nyní na 16. místě s odhadovanou incidencí 452 případů na 100.000 osob [3]. Kampala – hlavní město Ugandy s přibližně 2 miliony lidí – odpovídá za přibližně 30 % výskytu TBC v zemi [6]. Přesná diagnóza TBC má klíčový význam pro efektivní léčbu pacienta; nicméně konvenční přístupy k diagnostice TBC stále spoléhají na testy s velkými omezeními [7 – 10].

Smear mikroskopie, široce dostupná diagnostická metoda, má nízkou citlivost (30 % až 60 %) zejména u pacientů současně infikovaných HIV. Rentgen hrudníku často používaný jako doplňkový test při smear-mikroskopicky negativní TBC plic má také

nízkou specificitu. Kultivace na pevných půdách jako potvrzující test je drahá, zdoluhavá (až 8 týdnů) a v situacích s omezenými zdroji není běžně k dispozici [11]. Světová zdravotnická organizace (WHO) doporučuje používat kultury na tekutých živných půdách v zemích s vysokým zatížením TBC díky výhodám rychlé detekce a inkrementální výtěžnosti ve srovnání s pevnými živnými půdami [12]. Nicméně metody s tekutou kulturou jsou náchylné ke kontaminaci a obvykle podporují růst netuberkulózních mykobakterií (NTM), který mohou rovněž obývat horní dýchací cesty a způsobovat onemocnění u pacientů s narušenou imunitou [13]. To může vést k hlášení falešných výsledků, zejména při testování citlivosti na léčiva tím, že NTM jsou přirozeně rezistentní na běžné léky proti TBC [14, 15]. Dále MTC a NTM způsobují klinicky odlišné klinické příznaky, tudíž rychlá identifikace má zásadní význam pro odpovídající léčbu pacientů [16 – 18].

V poslední době byly zavedeny testy na bázi amplifikace nukleových kyselin (NAAT – Nucleic Acid Amplification Tests) pro rychlou identifikaci mykobakterií přímo ve vzorku nebo kultuře. Jako takový byl představen in-house PCR test pro identifikaci MTC na JCRC – Joint Clinical Research Centre (společné centrum klinického výzkumu) v Kampale, v Ugandě. Nicméně tato metoda měla některé nedostatky: doba obrátky je dlouhá (přibližně 8 hodin), což vede ke zpoždění v hlášení výsledků. Dále jsme se setkali s vysokou mírou falešně negativních výsledků hemokultur (tj. vzorky připravené ze systému BACTEC 9120, nepublikovaná pozorování). Konvenční molekulární metody jsou stále technicky nákladné: reagentie vyžadují uchování a dopravu v chladu; metody jsou pracné a vyžadují samostatné místnosti pro extrakci, amplifikaci a detekci DNA. Z důvodu efektivnosti nákladů je obvykle nutné zpracovávat vzorky v dávkách.

Test Capilia TB je imuno-chromatografická metoda, která detekuje protein MPB64 vylučovaný z bakterií MTC do kultivačního média [12]. Podobné proteiny původně nalezené v *M. bovis* (tj. ortologní k MPB64) byly zjištěny u všech druhů MTC a jsou vzácně hlášeny u NTM. Test Capilia TB je rychlý, jednoduchý a nevyžaduje speciální vybavení [19, 20]; byl shledán efektivním pro identifikaci MTC v Jižní Africe, Thajsku a Zambii [20, 21]. V této studii byla hodnocena výkonnost testu Capilia TB pro rychlou detekci MTC ze systémů BACTEC MGIT 960 a BACTEC 9120 v Kampale, v Ugandě. Navíc byla hodnocena výkonnost testu Capilia TB na hemokulturách, protože předchozí studie se zabývaly především respiračními vzorky. Celková senzitivita, specificita, PPV a NPV testu Capilia TB byly vysoké a ve shodě s hodnotami získanými jinde.

Metody

Nastavení a návrh studie

Vzorky pro tuto průřezovou studii byly získány od osob s podezřením na plicní a diseminovanou TBC (v případech na počátku, při sledování a při přeléčení) přijatých na kliniku JCRC a TB oddělení v nemocnici Old Mulago v Kampale, v Ugandě od dubna 2008 do května 2009.

Vzorky sputa a obsahu žaludku ve sterilních zkumavkách Falcon 50 ml byly získány přímo od osob s podezřením na TBC a byly vstříknuty do sterilních zkumavek Falcon 50 ml, zatímco krevní vzorky byly odebrány intravenózně sestrou provádějící studii a naočkovány do hemokulturních lahvíček BACTEC 9120. Vzorky byly kultivovány v automatizovaných systémech BACTEC MGIT 960 a BACTEC 9120 (vzorky z nemocnice Old Mulago byly převáženy denně kurýrem do JCRC na kultivaci). Byla zvažována vhodná velikost vzorku (tj. taková, která neměla vliv na péči o pacienta) – 253 AFB-positivních zaslepených vzorků; vzorky byly vybrány do dávek po 30 po detekci AFB (během 42 dnů; AFB-negativní vzorky ve stejném období byly vyloučeny). Byly provedeny testy in-house PCR v laboratoři molekulární biologie fakulty lékařských věd Makererské univerzity (Makerere University College of Health Sciences – MakCHS), zatímco testy Capilia TB byly provedeny v JCRC.

Zpracování a kultivace vzorků

Vzorky sputa a obsahu žaludku byly zpracovány v digestoři s biologickou bezpečností třídy II standardní metodou N-acetyl L-cystein (NALC) / NaOH [22]. Stručně řečeno, ke každému vzorku byl přidán stejný objem dekontaminačního / digesčního pufru (6 % NaOH, 2,9 % Na-citrát a NALC), bylo provedeno protřepání (vortex) po dobu 5 minut a inkubace při pokojové teplotě po dobu 15 minut.

Digestované vzorky byly neutralizovány fosfátovým pufrem (pH 6,8) a důkladně promíchány převrácením. Vzorky byly odstředěny při 3000 g po dobu 15 minut, a sediment by suspendován ve 2,5 ml fosfátovém pufrem (pH 6,8). Poté bylo do indikačních růstových zkumavek pro Mycobacterie (Mycobacterium Growth Indicator Tubes – MGIT) přidáno 0,8 ml růstového doplňku, Polymyxin B, Amphoterin B, kyselina

nalidixová, Trimetoprim a Azlocillin (PANTA), k čemuž bylo přidáno 0,5 ml digestovaného vzorku a byla provedena inkubace v systému BACTEC MGIT 960 po dobu 6 týdnů. U krevních kultur byly před inkubováním skenovány čárové kódy přímo po dobu 6 týdnů v systému BACTEC 9120. Na vzorcích BACTEC MGIT 960 a BACTEC 9120 s mikrobiálním růstem bylo provedeno Zeihl-Neelsenovo (ZN) barvení pro určení přítomnosti AFB. Byly provedeny kontroly čistoty dílčí kultivací na destičkách krevního agaru.

Testy Capilia TB

Na AFB-pozitivních vzorcích BACTEC byl proveden test Capilia TB (TAUN, Numazu, Japonsko) podle pokynů výrobce. U bakteriálních kolonií, které rostly na pevném médiu (Middlebrook 7H10), byla připravena suspenze smícháním jedné kolonie s 0,2 ml extrakčního pufru a protřepáním (vortex); výsledná suspenze byla poté aplikována na proužek Capilia TB (podle pokynů výrobce).

In-house PCR

Výkonnost testu Capilia TB byla porovnána s in-house PCR, který jsme použili jako základní identifikační test na MTC. Protokol in-house PCR byl založen na detekci IS6110, což je jedinečné pro členy MTC [22]. Šablony byly připraveny z kultur BACTEC a byly použity ve postupu PCR-amplifikace popsaném dříve [22]. Dále byly identifikovány MTC na úrovni druhu genotypizační metodou diferenčních regionů (RD), jak bylo popsáno dříve autory Asiimwe et al, 2008 [23]. Všechny kmeny patřily *M. tuberculosis* stricto sensu (v přesném slova smyslu) [23].

Řízení kvality

Aby se předešlo křížové kontaminaci, byly pro přípravu vzorků, extrakci DNA a přípravu amplifikačních reakcí použity samostatné místnosti a samostatná zařízení. Navíc do PCR byly vždy zahrnuty pozitivní a negativní kontroly. Produkty amplifikačních reakcí a PCR byly otevřeny v samostatných UV digestořích nacházejících se v oddělených místnostech. U kultur byly použity aerosolové rezistentní hroty 160 a byly měněny pro každý vzorek, jak bylo dříve popsáno [22]. Vzorky s protichůdnými 161 výsledky byly analyzovány pomocí identifikační soupravy Hains MTB (Hains life sciences, Nehren, 162

Německo). Krevní vzorky, ve kterých rostly AFB, byly dále sub-kultivovány na agaru 163 Middlebrook 7H10 a znovu analyzovány jak testem in-house PCR tak Capilia TB.

Etické otázky

Etický souhlas byla získán od institucionální revizní rady JCRC a Národní rady pro vědu a technologii Ugandy. Písemný informovaný souhlas byl získán od všech účastníků studie.

Výsledky a diskuse

Výkonnost Capilia TB pro identifikaci MTC v kulturách BACTEC

V této studii byly hodnoty celkové senzitivity, specifity, PPV a NPV testu Capilia TB vysoké a byly ve shodě s hodnotami získanými v jiných studiích [17, 20, 21, 24]. Z 253 AFB-pozitivních vzorků bylo 79 (31 %, 79/253) hemokultur BACTEC 9120, zatímco 174 (69 %, 174/253) kultur bylo BACTEC MGIT 960. Bacily *M. tuberculosis* komplex byly zjištěny ve 129 vzorcích (51 %, 129/253) pomocí Capilia TB a ve 130 (51 %, 130/253) pomocí in-house PCR. Pomocí Capilia bylo identifikováno 124 (49 %, 124/253) NTM, zatímco pomocí in-house PCR bylo identifikováno 130 (51 %, 130/253). Hodnoty celková senzitivity, specifity, PPV a NPV testu Capilia TB byly 98,4 %, 97,6 %, 97,7 % a 180 98,4 % v uvedeném pořadí (tabulka 1). Kappa statistika byla 0,96, což naznačuje téměř dokonalou shodu mezi testy.

Výkonnost testu Capilia TB pro identifikaci MTC v čistých versus kontaminovaných kulturách

Z celkového počtu 253 BACTEC AFB-pozitivních kultur bylo 139 (55 %, 139/253) kontaminovaných, zatímco 114 (45 %, 114/253) bylo čistých. Screeningem kontaminovaných kultur (viz tabulka 2) testem Capilia TB na MTC byly zjištěny hodnoty senzitivity, specifity, PPV a NPV 95,1 %, 99 %, 97,5 % a 98 % v uvedeném pořadí; tyto hodnoty byly v podobném rozsahu s hodnotami pro čisté kultury (tj. 98,9 %, 96,3 %, 98,9 % a 96,3 % v uvedeném pořadí). Kappa statistiky pro oba testy kontaminovaných a čistých vzorků byly 0,98 a 0,95 (téměř dokonalá shoda) v uvedeném pořadí.

Výkonnost Capilia TB při identifikaci MTC z hemokultur a subkultur BACTEC na pevných médiích

Před sub-kultivací na destičkách Middle brook 7H10 bylo jako MTC identifikováno 57 (72 %, 57/79) ze 79 AFB-pozitivních hemokultur BACTEC 9120 pomocí Capilia TB, zatímco pouze čtyři (5 %, 4/79) byly identifikovány pomocí in-house PCR. Navíc pomocí Capilia TB bylo identifikováno 22 (28 %, 22/79) hemokultur jako NTM, zatímco pomocí in-house PCR bylo identifikováno 75 (95 %, 75/79). Hodnoty senzitivity, specificity, PPV a NPV testu Capilia TB na přímých hemokulturách byly 100 %, 29,3 %, 7 % a 100 % v uvedeném pořadí (viz tabulka 3). Hodnota statistiky Kappa byla 0,04, což naznačuje mírnou shodu mezi Capilia a in-house PCR při použití na přímé hemokultuře. Po sub-kultivaci na destičkách Middlebrook 7H10, byl pomocí Capilia TB identifikován stejný počet vzorků jako MTC (například 57/79, 72 %), zatímco pomocí in-house PCR bylo identifikováno 56 (tj. o 52 více, 71 %). Při testování počátečních in-house PCR negativních hemokultur testem Hains MTB bylo 57 (72 %, 57/79) vzorků potvrzeno jako MTC, což bylo ve 100% shodě s testem Capilia TB.

Tabulka 1 – Senzitivita a specificita of Capilia TB ve srovnání s in-house PCR

Capilia	PCR		
	Pozitivní	Negativní	Celkem
Pozitivní	127	2	129
Negativní	3	121	124
Celkem	130	123	253

Senzitivita (Se) = 98,4 %; Specificita (Sp) = 97,58 %; Pozitivní prediktivní hodnota (PPV – Positive Predictive Value) = 97,7 %; Negativní prediktivní hodnota (NPV – Negative Predictive Value) = 98,4 %; a Kapa statistika (κ) = 0,96 (téměř dokonalá)

Tabulka 2 – Výkonnost Capilia TB pro identifikace MTC na kontaminovaných a čistých kulturách BACTEC

		PCR		
^a Capilia		<i>Pozitivní</i>	<i>Negativní</i>	<i>Celkem</i>
	<i>Pozitivní</i>	3	1	40
	<i>Negativní</i>	2	97	99
	<i>Celkem</i>	41	98	139
^b Capilia		<i>Pozitivní</i>	<i>Negativní</i>	<i>Celkem</i>
	<i>Pozitivní</i>	86	1	87
	<i>Negativní</i>	1	26	27
	<i>Celkem</i>	87	27	114

^a Výkonnost (%) testu Capilia TB na kontaminovaných kulturách BACTEC.

Hodnoty Se, Sp, PPV a NPV byly 95,1, 99, 97,5 a 98 v uvedeném pořadí.

^a Výkonnost (%) testu Capilia TB na čistých kulturách BACTEC.

Hodnoty Se, Sp, PPV, NPV a (#) byly 98,9, 96,3, 98,9, 96,3 a (0.98 a 0.95) v uvedeném pořadí, (téměř dokonalá shoda).

Tabulka 3 – Výkonnost Capilia TB pro identifikaci MTC u přímých hemokultur a na pevném médiu (7H10 sub-kultury)

		PCR				
Capilia	Hemokultura ^a			7H10 ^b		
	<i>Pozitivní</i>	<i>Negativní</i>	<i>Celkem</i>	<i>Pozitivní</i>	<i>Negativní</i>	<i>Celkem</i>
<i>Pozitivní</i>	4	53	57	56	1	57
<i>Negativní</i>	0	22	22	0	22	22
<i>Celkem</i>	4	75	79	56	23	79

^a Výkonnost (%) testu Capilia TB na vzorcích odebraných přímo z hemokultur.

Hodnoty Se, Sp, PPV a NPV byly 100, 29, 7 a 100 v uvedeném pořadí.

^b Výkonnost (%) testu Capilia TB na médiu Middlebrook 7H10.

Hodnoty Se, Sp, PPV, NPV & (#) byly 100, 95,6, 98,2, 100 a (0.98), v uvedeném pořadí (téměř dokonalá shoda)

Pro in-house PCR došlo ke zlepšení specificity (29,3 % oproti 95,6 %) a PPV (7 % oproti 98,2 %) až po sub-kultivaci na destičkách Middlebrook 7H10, zatímco hodnoty pro Capilia TB zůstaly nezměněny (tabulka 3). Toto potvrdilo přítomnost MTC v 57 vzorcích hemokultury, jak bylo původně identifikováno pomocí testu Capilia TB. Shoda mezi oběma testy byla téměř dokonalá (kappa statistika = 0,98). Tudíž test Capilia TB byl při zjišťování MTC v hemokulturách BACTEC účinnější než in-house PCR. Toto ukázalo lepší kvalitu testu Capilia TB oproti in-house PCR při identifikaci MDS v různých vzorcích. U in-house PCR byl počáteční vysoký počet falešně negativních výsledků pravděpodobně způsoben inhibitory PCR v krvi (například haeme a/nebo porfyrinů z lyzovaných erytrocytů, které jsou předpokládány inhibitory Taq polymerázy [25]), protože PCR na vzorcích 7H10 se staly pozitivními. Pokud jde o materiály a práci, celkové náklady na vzorek pro identifikaci MTC pomocí Capilia TBC byly levnější než u in-house PCR (tabulka 4). Kromě toho odhadované náklady jsou vyšší i po vyloučení zařízení (jako jsou například termocyklery).

Omezení

Vzhledem k omezeným zdrojům jsme nemohli sekvenčně potvrdit MTC druhy ani provést biochemické testy, které jsou považovány za zlatý standard pro identifikaci MTC. Dále AFB byly detekovány ZN barvením, což není příliš citlivé, a z čehož vyplývá, že MTC v ZN negativních vzorcích byly pravděpodobně opominuty / přehlédnuty.

Tabulka 4 – Náklady na jeden test Capilia TB ve srovnání s in-house PCR

Materiály na zkoušku	PCR		Capilia	
	<i>Množství</i>	<i>Náklady^a</i>	<i>Množství</i>	<i>Náklady^a</i>
<i>Kryozkumavky Cryovial</i>	1	0,34	–	
<i>Pasteur pipety</i>	1	0,1	1	0,19
<i>Kazeta Capilia test</i>	–	–	1	1,84
<i>PCR reagencie</i>	1	10,00	–	
<i>Kontrola kvality PCR</i>	1	0,53	–	
<i>Pipetové hroty</i>	8	0,40	–	
<i>PCR zkumavky</i>	1	0,05	–	
<i>Celkové náklady^a</i>		12,59		2,03

- Není aplikovatelné; ^a USD

Dále, mutace v genu *mpb64* obvykle vedly k detekci falešných negativních výsledků [12, 24], při nedávném pozitivním testování NTM pomocí testu Capilia TB [12, 24]; tyto skutečnosti spolu s nemožností rozlišovat členy MTC a nemožností pracovat na klinických vzorcích určitým způsobem negují účinnost testů Capilia TB. Tyto nedostatky jsou též re-iterovány ve vložkách soupravy výrobce, což znamená, že sada by měla být používána s opatrností.

Závěr

Test Capilia TB měl lepší výsledky a byl levnější než IS6110 in-house PCR pro rychlou identifikaci MTC ze systémů BACTEC MGIT 960 a BACTEC 9120. Optimální výkon in-house PCR na krevních kulturách vyžaduje pro optimální výkon další krok izolace na pevném médiu.

Zkratky

AFB:	Acid fast bacilli	Acidorezistentní bacily
MTC:	Mycobacterium tuberculosis complex	
MTB:	Mycobacterium tuberculosis	
IS6110:	Insertion Sequence 6110	Inzerční sekvence IS6110
JCRC:	Joint Clinical Research Center	Společné středisko klinického výzkumu
NAAT:	Nucleic acid amplification tests	Test amplifikace nukleových kyselin
MGIT:	Mycobacteria growth indicator tube	Zkumavka pro indikaci růstu mykobakterií
NTM:	Non-tuberculous mycobacteria	Netuberkulózní mykobakterie
PCR:	Polymerase chain reaction	Polymerázová řetězová reakce
TBRU:	Tuberculosis Research Unit	Výzkumní jednotka TBC
ZN:	Ziehl-Neelsen	Zeihl-Neelsen (barvení)
PANTA:	Polymyxin B, amphoterin B, nalidixic acid, trimetoprim and azlocillin	Polymyxin, Amphoterin, Nalidixic acid, Trimetoprim a Azlocillin
NPV:	Negative predictive value	Negativní prediktivní hodnota
PPV:	Positive predictive value	Pozitivní prediktivní hodnota
MakCHS:	Makerere University College of Health Sciences	Fakulta lékařských věd makerereské univerzity

Poděkování

Autoři děkují Nadaci pro inovativní novou diagnostiku (Foundation for Innovative New Diagnostics – FIND) v Kampale, v Ugandě, a zambijskému projektu ZAMBART za poskytnutí souprav Capilia TB; a týmu JCRC a molekulárních laboratoří (MakCHS) za jejich neocenitelnou podporu. Tento projekt byl financován z části Výzkumnou jednotkou TBC (Tuberculosis Research Unit TBRU) založenou z federálních prostředků od Národních institutů alergických a infekčních nemocí USA (U.S. National Institutes of Allergy and Infectious Diseases) a Národních institutů zdravotních a sociálních služeb (U.S. National Institutes of Health and Human Services) na základě smluv č. NO1- AI-95383 a HHSN266200700022C/NO1-AI-70022.

Podrobnosti o autorech

- ¹ Laboratoř JCRC TB Laboratory – Laboratoř TBC Společného centra klinického výzkumu, Mengo, Kampala, Uganda
- ² Ústav lékařské mikrobiologie, Škola biomedicínských věd, Fakulta lékařských věd Makerereské Univerzity, Kampala, Uganda (Department of Medical Microbiology, School of Biomedical Sciences, Makerere University College of Health Sciences, Kampala, Uganda).
- ³ Patologický ústav, Univerzita pro lékařské vědy v Arkansasu, Little Rock, USA (Department of Pathology, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, USA.).

Příspěvky autorů

CM provedl pokusy a napsal rukopis, který zkontrolovali a revidovali DPK a AE. JA, FM a KM se účastnili návrhu studie; AE prováděl statistickou analýzu. PRO prováděl in-house PCR. CM, KE a MLJ kociovali studii, kterou přezkoumali KE a MLJ. Všichni autoři četli a schválili závěrečný rukopis.

Konkurenční zájmy

Autoři prohlašují, že nemají žádné konkurenční zájmy.

Přijato: 30. června 2011

Schváleno: 19. ledna 2012

Publikováno: 19. ledna 2012

Odkazy

1. Cole ST: Comparative and functional genomics of the Mycobacterium tuberculosis complex. (Srovnávací a funkční genomika komplexu Mycobacterium tuberculosis.) *Microbiology* 2002, 148(Pt 10):2919-2928.
2. Tsiouris SJ, Gandhi NR, El-Sadr WM, Gerald F: Tuberculosis and HIV-Needed A New Paradigm for the Control and Management of Linked Epidemics. (Tuberkulóza a HIV – potřebné nové paradigma pro kontrolu a řízení propojených epidemií.) *J Int AIDS Soc* 2007, 9(3):62.
3. World Health Organisation: Global tuberculosis control. A short update to the 2009 report. (Světová zdravotnická organizace: Globální ovládání tuberkulózy. Krátká aktualizace zprávy z roku 2009.)
[http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/update/en/index.html].
4. The deadly synergy of HIV and tuberculosis. (Smrtící synergie HIV a tuberkulózy.) *Lancet Infect Dis* 2010, 10(7):441.

5. El-Sadr WM, Tsiouris SJ: HIV-associated tuberculosis: diagnostic and treatment challenges. (Tuberkulóza spojená s HIV tuberkulóza: diagnostické a terapeutické problémy.) *Semin Respir Crit Care Med* 2008, 29(5):525-531.
6. Tuberculosis Profile for Uganda - USAID. (Profil tuberkulózy v Ugandě – USAID.) [http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PDACI554.pdf].
7. Gagneux S, Burgos MV, DeRiemer K, Enciso A, Muñoz S, Hopewell PC, Small PM, Pym AS: Impact of Bacterial Genetics on the Transmission of Isoniazid-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*. (Vliv bakteriální genetiky na předávání *Mycobacteria tuberculosis* s odolností na Isoniazid.) *PLoS Pathog* 2006, 2(6): e61.
8. Nahid P, Pai M, Hopewell PC: Advances in the diagnosis and treatment of tuberculosis. (Pokroky v diagnostice a léčbě tuberkulózy.) *Proc Am Thorac Soc* 2006, 3(1):103-110.
9. Foulds J, O'Brien R: New tools for the diagnosis of tuberculosis: the perspective of developing countries. (Nové nástroje pro diagnostiku tuberkulózy: perspektiva rozvojových zemí.) *Int J Tuberc Lung Dis* 1998, 3(10):778-783.
10. Perkins MD: New diagnostic tools for tuberculosis. (Nové nástroje pro diagnostiku tuberkulózy.) *Int J Tuberc Lung Dis* 2000, 4(12 Suppl 2):S182-S188.
11. Reid MJ, Shah NS: Approaches to tuberculosis screening and diagnosis in people with HIV in resource-limited settings. (Přístupy ke screeningu a diagnostice tuberkulózy u lidí s HIV v prostředí s omezenými zdroji.) *Lancet Infect Dis* 2009, 9(3):173-184.
12. Shen GH, Chiou CS, Hu ST, Wu KM, Chen JH: Rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by combining the ESAT-6/CFP-10 immunochromatographic assay and smear morphology. (Rychlá Identifikace komplexu *Mycobacterium tuberculosis* kombinací ESAT-6/CFP-10 imunochromatografického testu a smear morfologie.) *J Clin Microbiol* 49(3):902-907.
13. Wagner D, Young LS: Nontuberculous mycobacterial infections: a clinical review. (Netuberkulózní mykobakteriální infekce: klinické hodnocení.) *Infection* 2004, 32(5):257-270.
14. Griffith DE: Nontuberculous mycobacterial lung disease. (Netuberkulózní mykobakteriální onemocnění plic.) *Curr Opin Infect Dis* 2010, 23(2):185-190.

15. Griffith DE, Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr: Diagnosing nontuberculous mycobacterial lung disease. A process in evolution. (Diagnostika netuberkulózních mykobakteriálních onemocnění plic.) *Infect Dis Clin North Am* 2002, 16(1):235-249.
16. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. This official statement of the American Thoracic Society was approved by the Board of Directors, March 1997. Medical Section of the American Lung Association. (Diagnostika a léčba onemocnění způsobeného netuberkulózními mykobakteriemi. Toto oficiální prohlášení amerického hrudní společnosti bylo schváleno představenstvem v březnu 1997. Lékařská sekce Americké plicní asociace.) *Am J Respir Crit Care Med* 1997, 156(2 Pt 2):S1-25.
17. Hasegawa N, Miura T, Ishii K, Yamaguchi K, Lindner TH, Merritt S, Matthews JD, Siddiqi SH: New simple and rapid test for culture confirmation of Mycobacterium tuberculosis complex: a multicenter study. (Nový jednoduchý a rychlý test pro kultivační potvrzení Mycobacterium tuberculosis komplex: multi-středisková studie.) *J Clin Microbiol* 2002, 40(3):908-912.
18. Park MY, Kim YJ, Hwang SH, Kim HH, Lee EY, Jeong SH, Chang CL: Evaluation of an immunochromatographic assay kit for rapid identification of Mycobacterium tuberculosis complex in clinical isolates. (Hodnocení sady pro imunochromatografický test pro rychlou identifikaci komplexu Mycobacterium tuberculosis v klinických izolátech.) *J Clin Microbiol* 2009, 47(2):481-484.
19. Shen GH, Chen CH, Hung CH, Wu KM, Lin CF, Sun YW, Chen JH: Combining the Capilia TB assay with smear morphology for the identification of Mycobacterium tuberculosis complex. (Kombinace Capilia TB testu se smear morfologií pro identifikaci komplexu Mycobacterium tuberculosis.) *Int J Tuberc Lung Dis* 2009, 13(3):371-376.

20. Ngamlert K, Sinthuwattanawibool C, McCarthy KD, Sohn H, Starks A, Kanjanamongkolsiri P, Anek-vorapong R, Tasaneeyapan T, Monkongdee P, Diem L, et al: Diagnostic performance and costs of Capilia TB for Mycobacterium tuberculosis complex identification from broth-based culture in Bangkok, Thailand. (Diagnostické výkony a náklady Capilia TB pro identifikaci komplexu Mycobacterium tuberculosis ze živné kultury v Bangkoku v Thajsku.) *Trop Med Int Health* 2009, 14(7):748-753.
21. Muyoyeta M, de Haas PE, Mueller DH, van Helden PD, Mwenge L, Schaap A, Kruger C, van Pittius NC, Lawrence K, Beyers N, et al: Evaluation of the Capilia TB assay for culture confirmation of Mycobacterium tuberculosis infections in Zambia and South Africa. (Vyhodnocení testu Capilia TB pro potvrzení infekce kultury Mycobacterium tuberculosis v Zambii a Jižní Africe.) *J Clin Microbiol* 2010, 48(10):3773-3775.
22. Muhumuza J, Asimwe BB, Kayes S, Mugenyi R, Whalen C, Mugerwa RD, Boom H, Eisenach KD, Joloba ML: Introduction of an in-house PCR for routine identification of M. tuberculosis in a low-income country. (Zavedení in-house PCR pro rutinní identifikaci M. tuberculosis v zemi s nízkými příjmy.) *Int J Tuberc Lung Dis* 2006, 10(11):1262-1267.
23. Asimwe BB, Koivula T, Kallenius G, Huard RC, Ghebremichael S, Asimwe J, Joloba ML: Mycobacterium tuberculosis Uganda genotype is the predominant cause of TB in Kampala, Uganda. (Ugandský genotyp Mycobacterium tuberculosis je převládající příčinou TBC v ugandské Kampale.) *Int J Tuberc Lung Dis* 2008, 12(4):386-391.
24. Hirano K, Aono A, Takahashi M, Abe C: Mutations including IS6110 insertion in the gene encoding the MPB64 protein of Capilia TB-negative Mycobacterium tuberculosis isolates. (Mutace včetně vložení IS6110 do genu kódujícího proteinu MPB64 Capilia TB-negativních izolátů Mycobacterium tuberculosis.) *J Clin Microbiol* 2004, 42(1):390-392.

25. Qian Q, Tang YW, Kolbert CP, Torgerson CA, Hughes JG, Vetter EA, Harmsen WS, Montgomery SO, Cockerill FR, Persing DH: Direct identification of bacteria from positive blood cultures by amplification and sequencing of the 16S rRNA gene: evaluation of BACTEC 9240 instrument true-positive and false-positive results. (Přímá identifikace bakterií z pozitivních hemokultur amplifikací a sekvencováním genu 16S rRNA: vyhodnocení pravdivě pozitivních a falešně pozitivních výsledků přístroje BACTEC 9240.) *J Clin Microbiol* 2001, 39(10):3578-3582.

doi: 10.1186/1756-0500-5-44

Tento článek citujte jako:

Muchwa et al.: Evaluation of Capilia TB assay for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex in BACTEC MGIT 960 and BACTEC 9120 blood cultures. (Vyhodnocení testu Capilia TB pro rychlou identifikaci komplexu *Mycobacterium tuberculosis* v hemokulturách BACTEC MGIT 960 a BACTEC 9120.) *BMC Research Notes* 2012 5:44.

Předložte Váš další rukopis do BioMed Central a využijte plných výhod:

- Pohodlné předkládání on-line
- Důkladné rovnocenné přezkoumání
- Žádná omezení prostoru ani poplatky za barevné obrázky
- Okamžité publikování po schválení
- Zahrnutí do PubMed, CAS, Scopus a Google Scholar
- Rešerše, které jsou volně dostupné pro další distribuci

Vaše rukopisy předkládejte na www.biomedcentral.com/submit