

AccuProbe®

TEST PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

POUZE PRO EXPORT

(bioMérieux ref. 39000 / Hologic č. kat. 102860)

URČENÉ POUŽITÍ

Test ACCUPROBE PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS je rychlý test za použití DNA sondy využívající hybridizace molekul nukleových kyselin ke zjištění *Mycobacterium tuberculosis* (TB komplex) izolovaných v kultuře. TB komplex sestává z těchto druhů: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. africanum*, *M. microti* a *M. canetti* (8, 11).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ TESTU

Organismy TB komplexu jsou příčinou značné nemoci a úmrtnosti u člověka. *M. tuberculosis* je nejběžnějším patogenem TB komplexu izolovaným u člověka. V roce 1988 bylo hlášeno 21.244 nových případů tuberkulózy (2). *M. bovis BCG* mohou nakažená zvířata přenášet na člověka (6). *M. africanum* způsobuje plicní tuberkulózu v tropické Africe (9) a *M. microti* primárně infikuje zvířata.

Tuberkulóza je vysoce nakažlivá, tudíž je důležité včasné zjištění choroby. Mnoha klinickým laboratořím stačí přiřazení izolátu k TB komplexu, protože pravděpodobnost, že izolát je jiný druh než *M. tuberculosis*, je extrémně nízká (5, 6, 10). Pokud se požaduje ještě další rozlišení druhů, doporučuje se řada biochemických testů, které specifikují zástupce TB komplexu.

Klasické metody k identifikaci mykobakterií spoléhají na zbarvení acidorezistentních bacilů a poté testování kultury a biochemické testy. Určení izolátu těmito standardními metodami může trvat dva měsíce. (3).

Test ACCUPROBE PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS zjišťuje TB komplex izolovaný z kultury za méně než hodinu.

PRINCIPY POSTUPŮ

Testy hybridizace molekul nukleových kyselin jsou založeny na schopnosti komplementárních řetězců nukleových kyselin specificky se orientovat a spojit, aby se vytvořily stabilní komplexy se dvěma řetězci (4). AccuProbe system používá jednovláknovou DNA sondu s chemiluminiscenčním štítkem, která je komplementární k ribozomální RNA cílových organismů. Poté, co je ribozomální RNA uvolněna z organismu, označená DNA sonda se spojí s ribozomální RNA cílového organismu a vytvoří stabilní hybrid DNA:RNA. Selektivní činidlo umožňuje diferenciaci nehybridizované a hybridizované sondy. Označené hybridy DNA:RNA se měří luminometrem Hologic. Pozitivní výsledek je, pokud odečet luminometru se rovná nebo je větší než prahová hodnota. Hodnota pod těmito prahovými hodnotami je negativním výsledkem.

ČINIDLA

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

Činidla pro test ACCUPROBE K IDENTIFIKACI KULTURY KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS jsou k dispozici ve třech samostatných sadách s činidly:

SADA SE SONDOU ACCUPROBE PRO MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS KOMPLEX

Reagenční sonda (P) (4 x 5 zkumavek)
Mycobacterium tuberculosis komplex.
Lyzační zkumavky (LT) (1 x 20 zkumavek)
Skleněné kuličky a pufr.

SADA ČINIDEL ACCUPROBE PRO IDENTIFIKACI KULTURY

Činidlo 1 (Lyzační činidlo) (1) 1 x 10 ml
pufrovaný roztok obsahující 0,04% azidu sodného.
Činidlo 2 (Činidlo pro hybridizaci) (2) 1 x 10 ml
pufrovaný roztok.

Činidlo 3 (Selektivní činidlo) (3) 1 x 60 ml
pufrovaný roztok.

SADA DETEKČNÍCH ČINIDEL HOLOGIC

Detekční činidlo I (RI) 1 x 240 ml
0,1% peroxid vodíku v 0,001 N. kyselina dusičná.

Detekční činidlo II (RII) 1 x 240 ml
1 N hydroxid sodný.

VAROVÁNÍ a OPATŘENÍ

- A. Určeno pro diagnostiku *in vitro*.
- B. Při provádění této analýzy dodržujte všeobecná preventivní opatření (1).
- C. Používejte pouze ke zjištění TB komplexu izolovaného z kultury.
- D. Používejte pouze dodávané nebo určené jednorázové laboratorní zboží.
- E. Manipulace s kulturou a všechny postupy této procedury až ke kroku inaktivace tepla by se měly provádět v biologickém boxu třídy II.
- F. Činidla v této soupravě obsahují azid sodný, který může reagovat s olověným či měděným potrubím za vytváření vysoce výbušných azidů kovů. Při likvidaci těchto činidel vždy materiál rozřeďte velkým množstvím vody, aby nedošlo k hromadění azidu v potrubí.
- G. Zamezte styku detekčních činidel I a II s kůží, zasažení očí a sliznic. **VAROVÁNÍ: ŽÍRAVÝ PRODUKT.** Místa, která se dostanou do styku s těmito činidly, opláchněte vodou. Pokud dojde k úniku těchto činidel, nejprve je rozřeďte a poté dosucha vytřete.

POŽADAVKY NA UCHOVÁNÍ A MANIPULACI

Zkumavky s reagenční sondou je nutno uchovávat ve fóliových pouzdrech při teplotě 2° až 8°C. Jsou stabilní v neotevřených pouzdrech až do vyznačeného data uplynutí doby použitelnosti. Jakmile se pouzdro otevře, je nutno je znovu uzavřít a zkumavky by se měly použít do dvou měsíců a před datem uplynutí doby použitelnosti.

Ostatní činidla používaná v TESTU ACCUPROBE K IDENTIFIKACI KULTURY KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS lze uchovávat při teplotě 2° až 25°C jsou stabilní až do vyznačeného data uplynutí doby použitelnosti.

ČINIDLA NEZMRAZUJTE.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

TEST ACCUPROBE K IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS je určen ke stanovení identity TB komplexu izolovaného z kultury.

- A. **Metoda pevné půdy.** Lze testovat růst na příslušných pevných půdách, jako jsou Lowenstein-Jensen nebo Middlebrook 7H10 nebo 7H11, ukazující na TB komplex. Vzorky se mohou testovat, jakmile je růst viditelný a během následných šedesáti dnů od inkubace.
 - 1. Růst lze odebrat pomocí 1 µl jednorázové plastové kličky, drátěné kličky nebo jednorázovou plastovou jehlou. Tampony by se neměly použít z důvodu malého objemu kapaliny, v níž jsou buňky následně rozptýleny.
 - 2. S buňkami by se nemělo odebrat žádné množství pevné půdy.
 - 3. Uživatel se může v této době rozhodnout inokulovat další kultivační plotnu, aby se potvrdila čistota izolátu.
- B. **Metoda kultivace na půdě.** Pomocí testu ACCUPROBE K IDENTIFIKACI KULTURY KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS lze testovat růst v půdě Middlebrook 7H9 se zákalem rovnajícím se nebo větším než standard McFarland 1 Nephelometer. Naneste pipetou 100 µl vzorku z dobře zamíchané suspence půdy do lyžační reagenční zkumavky dle níže uvedené specifikace.

DODÁVANÝ MATERIÁL

Test ACCUPROBE K IDENTIFIKACI KULTURY KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
bioMérieux ref. 39000 / Hologic č. kat. 102860

20 Testů

Reagenční sonda (P) 4 x 5 zkumavek
Lyžační zkumavky (LT) 1 x 20 zkumavek

MATERIÁLY, KTERÉ SE VYŽADUJÍ, AVŠAK NEDODÁVAJÍ

1 µl plastové sterilní inokulační klíčky, drátěné klíčky nebo plastové jehly pro výběr kolonií.

Kontrolní kultivační kmeny

Vodní lázeň nebo horkovzdušná lázeň* (59,5° - 61°C)

Vodní lázeň nebo horkovzdušná lázeň* (95° ± 5°C)

Mikropipety (100 µl, 300 µl)

Re-pipettor (100 µl, 300 µl)

Mixér typu vortex

McFarland 1 Nephelometer Standard

*Topné bloky v horkovzdušné lázni by měly mít jamky s přesnými rozměry pro zkumavky 12 x 75 mm. Doporučuje se použití horkovzdušných lázní Hologic

K DISPOZICI U VAŠEHO DISTRIBUTORA HOLOGIC

Luminometr Hologic Leader 50i

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

Sonikátor Hologic

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

SADA ČINIDEL ACCUPROBE PRO IDENTIFIKACI KULTURY

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

SADA DETEKČNÍCH ČINIDEL HOLOGIC

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

Horkovzdušná lázeň (59,5° až 61°C)

(bioMérieux ref. 39406)

Horkovzdušná lázeň (95° ± 1°C)

(bioMérieux ref. 39407)

Horkovzdušná lázeň (59,5°- 61°/95° ± 1°C)

(bioMérieux ref. 39408)

Stojan sonikátoru Hologic

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

POSTUP TESTOVÁNÍ

A. PŘÍPRAVA ZAŘÍZENÍ

1. K zajištění optimálního přenosu energie zvuku musí být voda důkladně odplyněna tímto postupem:
 - a. Přidejte dostatek vody, aby se naplnila lázeň sonikátoru do půl palce od horního okraje nádrže.
 - b. Spusťte sonikátor po dobu 15 minut, aby se voda řádně odplynovala.
2. Nastavte jeden topný blok nebo vodní lázeň na teplotu 59,5° až 61°C a další topný blok nebo vodní lázeň na teplotu 95° ± 5°C.
3. Připravte luminometr Hologic pro provoz. Ujistěte se, že máte dostatečný objem detekčního činidla I a II k provedení testů.

B. KONTROLY

Positivní a negativní kontrolní kmeny by se měly testovat rutinně v každé laboratoři podle místních předpisů. Kulturu *Mycobacterium tuberculosis* (např. American Type Culture Collection, ATCC #25177) lze použít jako pozitivní kontrolu a kulturu *Mycobacterium avium* (např. ATCC #25291) jako negativní kulturu.

C. PŘÍPRAVA VZORKŮ

1. Označte dostatečný počet lyzačních reagenčních zkumavek k testování izolátů kultur a/nebo kontrol. Sejměte víčka a ponechte si je.
2. Naneste pipetou 100 µl činidla 1 (lyzační činidlo) a 100 µl činidla 2 (hybridizační pufr) do všech lyzačních reagenčních zkumavek. **Pokud budou testovány kultury z tekuté půdy, nepřidávejte do lyzačních reagenčních zkumavek činidlo 1.**
3. Přeneste vzorek z pevné půdy nebo 100 µl dobře promíchané kultury z tekuté půdy do označených lyzačních reagenčních zkumavek dle postupu v oddíle ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ. Zamíchejte klíčkou nebo jehlou v rozpuštěné směsi činidla 1 a činidla 2, aby se odstranily buňky, pokud se testuje růst z pevné půdy.
4. Nasadte znovu víčka lyzačních reagenčních zkumavek a krátce vortexujte.

D. LÝZE VZORKŮ

1. Zasuňte lyzační reagenční zkumavky do stojanu sonikátoru tak, aby reakční směs na dně zkumavky byla ponořena, ale víčka budou nad vodou. Vložte stojan sonikátoru do sonikátoru vodní lázně. **ZAMEZTE STYKU ZKUMAVEK SE DNEM NEBO STĚNAMI SONIKÁTORU.**

2. Provedte sonikaci po dobu 15 minut.
3. Vložte lyzační reagenční zkumavky obsahující sonikované organismy do topného bloku nebo vodní lázně na 10 minut při teplotě $95^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
4. Opatrně vyjměte lyzační reagenční zkumavky z topného bloku nebo vodní lázně.

E. HYBRIDIZACE

1. Otevřete foliové pouzdro rovnoměrným odříznutím podél vršku pouzdra. Vyjměte dostatek zkumavek s reagenční sondou k testování kultivačních izolátů a/nebo kontrol. Uzavřete znovu pouzdro několikerým stočením otevřeného okraje a zajistěte tento ohyb lepicí páskou nebo svorkou. **Předtím vložte do pouzdra vysoušecí prostředek.**
2. Označte dostatečný počet zkumavek s reagenční sondou k testování izolátů kultur a/nebo kontrol.
3. Sejměte víčka a ponechte je. Nadávkujte pipetou 100 μl lyzovaného vzorku z lyzačních reagenčních zkumavek do příslušných zkumavek s reagenční sondou.
4. Znovu zkumavky s reagenční sondou uzavřete a inkubujte po dobu 15 minut při teplotě $59,5^{\circ}$ až 61°C (7) ve vodní lázni nebo v topném bloku.

F. SELEKCE

1. Opatrně vyjměte zkumavky s reagenční sondou z topného bloku nebo vodní lázně. Sejměte víčka a ponechte je. Nadávkujte pipetou 300 μl činidla 3 (Selekční činidlo) do každé zkumavky. Znovu zkumavky uzavřete a vortexujte je, dokud nejsou směsi zcela rozmíchány.
2. Zkumavky s reagenční sondou inkubujte po dobu 10 minut při teplotě $59,5^{\circ}$ až 61°C ve vodní lázni nebo v topném bloku.
3. Vyjměte zkumavky s reagenční sondou z vodní lázně nebo topného bloku a ponechte je alespoň 5 minut při pokojové teplotě. Sejměte a zlikvidujte víčka. **Do 1 hodiny odečtěte výsledky v luminometru.**

G. DETEKCE

1. Z nabídky aplikace luminometru vyberte příslušný protokol.
2. Otřete každou zkumavku navlhčeným nebo papírovým ubrouskem, aby na vnějšku zkumavky nezůstaly žádná rezidua, a vložte zkumavku do luminometru podle pokynů přístroje.
3. Po ukončení analýzy vyjměte zkumavku/y z luminometru.

POZNÁMKY K POSTUPŮM

- A. ČINIDLA: Činidlo 2 (hybridizační pufr) se může srážet. Ohřívání a míchání roztoku při teplotě 35° až 60°C sraženiny rozpustí.
- B. TEPLOTA: Hybridizační a selekční reakce jsou závislé na teplotě. Tudiž je zásadně důležité, aby se ve vodní lázni či topném bloku udržovala teplota v určeném rozmezí.
- C. ČAS: Hybridizační a selekční reakce jsou závislé na čase. Hybridizujte minimálně 15 minut, avšak nepřekročte 20 minut. Inkubujte zkumavky s reagenční sondou během fáze SELEKCE alespoň 10 minut, avšak nepřekročte 11 minut.
- D. VODNÍ LÁZEŇ: Hladina vody ve vodní lázni by měla být udržována v takové výši, aby zkumavky s reagenční sondou byly ponořeny až po linii uzavíracího kroužku, avšak nikoliv hlouběji. Rovněž by se mělo zajistit, aby byl ponořen celý tekutý reakční objem ve zkumavkách s reagenční sondou.
- E. PROMÍCHÁNÍ VE VORTEXU: Je důležité, aby během PŘÍPRAVY VZORKU a SELEKCE byla směs homogenní, zvláště po přidání buněk k činidlům 1 a 2 a po přidání činidla 3.
- F. ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ
 1. Zvýšené negativní kontrolní hodnoty (*Mycobacterium avium* ATCC #25291) větší než 10.000 RLU (relativní světelné jednotky) v luminometru Leader nebo 300 PLU (fotometrické světelné jednotky) v luminometru AccuLDR (dříve PAL) mohou být důsledkem nedostatečného promíchání po přidání činidla 3 (Selekční činidlo) nebo při testování smíšených kultur. Protože se mohou objevit smíšené kultury, část růstu může být inokulována na příslušnou agarovou půdu a inkubována ke zjištění vícečetných typů kolonií.
 2. Nízké pozitivní kontrolní hodnoty (*M. tuberculosis* ATCC #25177) menší než 30.000 RLU v luminometru Leader nebo 900 PLU v luminometru AccuLDR (dříve PAL) mohou být důsledkem nedostatečného počtu buněk, nesprávné sonizace nebo při testování smíšených či přestárých kultur. Protože se mohou objevit smíšené kultury, část růstu může být inokulována na příslušnou agarovou půdu a inkubována ke zjištění vícečetných typů kolonií.

VÝSLEDKY

A. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledky testu ACCUPROBE PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS jsou založeny na níže uvedených prahových hodnotách. Vzorky vyvolávající signály, které jsou vyšší nebo rovnající se těmto prahovým hodnotám, jsou považovány za pozitivní. Signály nižší než tyto prahové hodnoty se považují za negativní.

Výsledky v rozmezí pro opakování je nutno opakovat.

	AccuLDR (dříve PAL)	Leader
Prahová hodnota	900 PLU	30.000 RLU
Rozmezí pro opakování	600 - 899 PLU	20.000-29.999 RLU

B. KONTROLA KVALITY A AKCEPTOVATELNOSTI VÝSLEDKŮ

Negativní kontrola (např. *M. avium*, ATCC #25291) a pozitivní kontrola (např. *M. tuberculosis*, ATCC #25177) by měly dosáhnout těchto hodnot:

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

OMEZENÍ

Tato metoda byla testována pomocí čerstvého růstu z pevné půdy a z půdy uvedené v oddíle ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ. Účinnost tohoto testu nebyla předvedena na přímých klinických vzorcích (např. vzorky moči, stolice nebo respirační vzorky).

Test ACCUPROBE PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS nečiní rozdíl mezi zástupci TB komplexu, tj. *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. africanum*, *M. microti*, a *M. canettii*. Reagenční sonda nereaguje s žádnou jinou mykobakterií, než s tuberkulózním bacilem (MOTT).

Výsledky testu PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS by se měly interpretovat ve spojení s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které má klinický pracovník k dispozici.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Test PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS byl porovnán se standardními metodami biochemické identifikace kultur na dvou pracovištích za použití celkem 612 izolátů TB komplexu, 748 izolátů z 28 jiných druhů mykobakterií a 7 dalších mikrobiálních izolátů představujících jeden genus. Standardní identifikace kultur závisí na rychlosti růstu, morfologii kolonie, mikroskopickém vyšetření a řadě biochemických reakcí. Izoláty byly zařazeny buďto jako pozitivní (≥ 30.000 RLU) nebo negativní (< 30.000 RLU). Rozmezí pozorování u negativních kultur bylo 226 až 33.343 RLU a u pozitivních kultur 4.163 až 646.053 RLU. Porovnání těchto výsledků se standardními metodami identifikace kultur viz níže.

ACCUPROBE / IDENTIFIKACE KULTUR						
AccuProbe Kultura	Poz. Poz.	Poz. Neg.	Neg. Poz.	Neg. Neg.	Citlivost/ Specificita	Procentuální dohoda
Pracoviště 1	422	1	1	541	99,8% /99,1%	99,8%
Pracoviště 2	185	0	4	213	99,9% /100%	99,0%
Celkem	607	1	5	754	99,2%/99,9%	99,6%

Když byly znovu testovány nesouladné vzorky, byly získány správné výsledky s výjimkou jednoho izolátu na pracovišti 2, který nebyl životaschopný.

CHARAKTERISTIKY VÝKONU

A. PŘESNOST V RÁMCI JEDNOHO CYKLU

Přesnost testu PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS v rámci jednoho cyklu byla vypočtena analýzou dvou koncentrací ribozomálních RNA izolovaných z *Mycobacterium tuberculosis* pomocí 10 replikátů v jednom testu.

Vzorek	A	B
Počet replikátů	10	10
Průměrná odezva	51.939	126.563
Standardní odchylka	1.980	5.869
Koeficient odchylky	3,8%	4,6%

B. PŘESNOST V RÁMCI NĚKOLIKA CYKLŮ

Přesnost v rámci několika cyklů byla vypočtena analýzou těchto dvou koncentrací ribozomálních RNA *Mycobacterium tuberculosis* pomocí jednoduchých stanovení v 12 po sobě jdoucích cyklech.

Vzorek	A	B
Počet replikátů	10	10
Průměrná odezva	51.522	126.227
Standardní odchylka	1.952	4.575
Koeficient odchylky	3,8%	3,6%

C. SPECIFICITA

Pomocí testu PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS bylo hodnoceno celkem 94 izolátů kultur ATCC. Tyto izoláty představovaly celkem 92 druhů ze 40 rodů. Pomocí testu PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS bylo hodnoceno šest izolátů TB komplexu (*M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti* a *M. tuberculosis*), 25 izolátů z 25 jiných druhů *Mycobacterium* a 63 izolátů z 39 jiných rodů zastupujících fylogenetické křížení organismů. MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX CULTURE IDENTIFICATION TEST. Všechny izoláty TB komplexu vykázaly pozitivní výsledek v testu PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS. Jiné druhy *Mycobacterium* a zástupci izolátů z fylogenetických křížení v tomto testu nereagovaly.

D. OBNOVA

Ribozomální RNA *Mycobacterium tuberculosis* při koncentracích od 5×10^{-4} µg do 1×10^{-1} µg na jeden test byla zkoumána za přítomnosti 30 milionů buněk buďto *M. avium*, *M. kansasii* nebo *Nocardia asteroides*. Za použití testu PRO IDENTIFIKACI KULTUR KOMPLEXU MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS nedošlo k žádnému narušení do signálu *M. tuberculosis* a ostatní přítomné organismy nereagovaly.

Literatura

1. **Centers for Disease Control.** 1988. United States Morbid. And Mortal. Weekly Rep. **37**: 377-382, 387-388.
2. **Centers for Disease Control.** 1989. United States Morbid. And Mortal. Weekly Rep. **37**: 805.
3. **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.
4. **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.
5. **Runyon, E.H., A.G. Karlson, G.P. Kubica, and L.G. Wayne.** 1980. *Mycobacterium*, p. 150-179. In E.H. Lennette et al. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 3rd ed. American Society of Microbiology, Washington, D.C.
6. **Sommers, H.M., and R.C. Good.** 1985. *Mycobacterium*, p. 216-248. In E.H. Lennette, et al. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. **Somoskóvi, A., J.E. Hotaling, M. Fitzgerald, V. Jonas, D. Stasik, L.M. Parsons, and M. Salfinger.** 2000. False-positive results for *Mycobacterium celatum* with the ACCUPROBE *Mycobacterium tuberculosis* complex assay. J. Clin. Microbiol. **38**: 2743-2745.
8. **Wayne, L.G.** 1982. Microbiology of tubercle bacilli. Am. Rev. Respir. Dis. **12**(Suppl): 31-41.
9. **Youmans, G.P.** 1979. Introduction: tuberculosis in the world today, p. 1-7. In Tuberculosis, W.B. Saunders, Philadelphia.
10. **Williams and Wilkins, Baltimore.** 1977. *Mycobacteriaceae*, p. 255-260. In J.G. Holt (ed.), The shorter bergey's manual of determinative bacteriology.
11. **Van Soolingen, D., T. Hoogenboezem, P.E.W. DeHaas, P.W. Hermans, M.A. Koedam, K.S. Teppema, P.J. Brennan, G.S. Besra, F. Portaels, J. Top, L.M. Schouls, and J.D.A. Van Embden.** 1997. A novel pathogenic taxon of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, Canetti: Characterization of an exceptional isolate from Africa. Int. J. System Bacteriol. **47**: 1236-1245.



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



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

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

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