

Mycobacterium Avium Culture Identification Test

(Hologic artikkelnummer 102835)

Kun for eksport.

Beregnet bruk

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST er en hurtig DNA-probebasert test der en benytter nukleinsyrehybridiseringsteknikk for å identifisere *Mycobacterium avium* isolert fra kultur (dyrking).

Sammendrag og beskrivelse av testen

Mycobacterium avium (*M. avium*) tilhører *Mycobacterium avium*-komplekset (*M. avium* kompleks), som består av et antall organismer hvis taksonomiske slektskapsforhold er både uklare og kontroversielle, men der patogeniteten er utvilsom (16). *M. avium* har vist seg å føre til signifikant sykdom hos immunsupprimerte pasienter (12). Infeksjonene er vanskelige å behandle, og alvorligheten av infeksjonen krever at diagnose stilles raskt. I tillegg kommer at forekomsten av *M. avium*-komplekset ved noen laboratorier er like stor eller endog større enn forekomsten av *M. tuberculosis*.

Klassiske metoder for påvisning av mykobakterier støtter seg til farging av syrefaste staver etterfulgt av dyrking og biokjemisk testing. Det kan ta opptil to måneder å artsbestemme et *Mycobacterium*-isolat ved bruk av disse standardmetodene (8).

M. avium-komplekset omfatter to arter: *M. avium* og *M. intracellulare*. *M. avium* og *M. intracellulare* er nesten umulig å skille fenotypisk, og biokjemiske tester klarer heller ikke å skille mellom dem.

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) har vist seg nyttig for å identifisere *M. avium* og *M. intracellulare* (3). Imidlertid er dette tidkrevende og lite tilgjengelig for de fleste kliniske laboratorier.

Serologi, der en benytter α -antigensera har også vært brukt for å skille mellom stammer av *M. avium* og *M. intracellulare*, og kan være nyttig i epidemiologiske undersøkelser. Serotyping er imidlertid ikke allment tilgjengelig, og er av begrenset nytteverdi i pasientbehandling. For tiden er 28 serovarer innen *M. avium*-komplekset anerkjent, og på ulike tidspunkter har forskjellige serotyper blitt henført til en og samme art av *M. avium* og *M. intracellulare*. Historisk ble serovarene 1 til 3 betegnet som *M. avium*, mens serovarene 4 til og med 28 var regnet som *M. intracellulare* (15).

Baess har i flere studier benyttet DNA:DNA-hybridisering for å klargjøre de taksonomiske forhold mellom disse to artene. Basert på sine analyser, konkluderte hun at serovarene 4, 5, 6, og 8, som inntil da hadde vært klassifisert som *M. intracellulare*, faktisk tilhørte arten *M. avium*. Status til serovar 9 var uklar (1, 2).

Saito, *et al*, brukte også DNA-probe-teknologi, og har foreslått følgende omplassering av de 28 serovarene: serovar 1 til og med 6, 8 til og med 11, samt 21 er *M. avium*; serovar 7, 12 til og med 20, og 25 er *M. intracellulare*, mens serovar 22 til og med 28 (unntatt serovar 25) ble vurdert som heterogene, og kunne derfor ikke bli klassifisert under noen av de to artene (13). I tillegg kommer at enkelte stammer ikke lot seg serotype, og at noen få agglutinerte i mer enn ett antiserum.

Andre rapporter der DNA-prober har vært benyttet for artsbestemmelse innen *Mycobacterium avium*-komplekset har også vært publisert. Dette inkluderer bruk av DNA-prober i epidemiologiske undersøkelser og kartlegging av geografisk distribusjon av *M. avium* og *M. intracellulare* (5-7, 9, 11, 14).

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST identifiserer *M. avium* isolert fra kultur. Dette tar mindre enn en time fra prøven er forbehandlet. Identifiseringen er basert på påvisning av spesifikke ribosomale RNA-sekvenser som er unike for *M. avium*. ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST er en rask, ikke-subjektiv og nøyaktig metode for påvisning av *M. avium* isolert fra kultur.

Prinsipper som prosedyren bygger på

Tester som bygger på nukleinsyrehybridisering benytter seg av evnen komplementære nukleinsyretråder har til å spesifikt feste seg til hverandre slik at stabile dobbeltrådede komplekser dannes (10). AccuProbe system gjør bruk av en enkeltrådet kjemiluminescensmerket DNA-probe som er komplementær til målorganismens ribosomale RNA. Etter at ribosomalt RNA er frigjort fra organismen, vil den merkede DNA-proben bindes til målorganismens ribosomale RNA og danne et stabilt DNA:RNA-hybrid. En spesiell Selection Reagent gjør det mulig å skille mellom ikke-hybridiserte og hybridiserte prober. De merkede DNA:RNA-hybridene måles i et Hologic luminometer. En luminometer-måling lik eller større enn cut-off regnes som positivt resultat, mens verdier under cut-off er negative.

Reagenser

Merknad: For informasjon om eventuelle fare- og sikkerhetssetninger som kan være forbundet med reagenser, se Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på www.hologic.com/sds.

Reagenser for bruk i ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST leveres i tre separate reagenskit:

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM PROBE KIT

Probe Reagent (P) (4 x 5 rør)
Mycobacterium avium.

Lysing Tubes (LT) (1 x 20 rør)
Glasskuler og buffer.

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT

Reagent 1 (Lysis Reagent) (1) 1 x 10 ml
bufret løsning inneholdende 0,04 % natriumazid.

Reagent 2 (Hybridization Buffer) (2) 1 x 10 ml
bufret løsning.

Reagent 3 (Selection Reagent) (3) 1 x 60 ml
bufret løsning.

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT

Detection Reagent I (RI) 1 x 240 ml
0,1 % hydrogenperoksid i 0,001 N salpetersyre.

Detection Reagent II (RII) 1 x 240 ml
1 N natriumhydroksid.

Advarsler og forholdsregler

- A. Kun for *in vitro* diagnostisk bruk.
- B. Følg allment aksepterte forholdsregler under utføring av dette assayet (4).
- C. Kun for bruk til identifisering av *M. avium* isolert fra kultur (dyrking).
- D. Benytt bare utstyr som medfølger eller engangsutstyr spesifisert i dette dokumentet.
- E. Håndtering av dyrkningskulturer og alle prosedyretrinn til og med varmeinaktiveringstrinnet, skal utføres i et sikkerhetskabinett (Biologisk sikkerhetskabinett klasse II).
- F. Reagenser i dette kitet inneholder natriumazid, som kan reagere med bly- eller kopperrør og utvikle potensielt eksplosive metallazider. Når disse reagensene avhendes, må stoffet alltid fortynnes med store mengder vann for å hindre utvikling av azid i rørsystemene.
- G. Unngå at Detection Reagent I og Detection Reagent II kommer i kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Dersom en får disse reagensene på seg må det vaskes bort med vann. Ved søl må en fortynne med vann før det tørkes opp.

Hensyn ved lagring og håndtering

Probe Reagent Tubes må lagres i folieposene ved 2 °C - 8 °C. Probe Reagent Tubes er stabile i uåpnede poser inntil den angitte utløpsdatoen. Etter at en pose har blitt åpnet bør den gjenforsegles, og rørene bør brukes innen to måneder, men innen utløpsdatoen.

Øvrige reagenser brukt i ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST kan lagres ved 2 °C - 25 °C, og vil da være stabile frem til den oppgitte utløpsdatoen.

REAGENSENE MÅ IKKE FRYSES.

Prøvetaking og -klargjøring

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST benyttes for å identifisere *Mycobacterium avium* isolert fra kultur (dyrking).

A. **Faste medier.** Kultur dyrket frem på fast medium, for eksempel Löwenstein-Jensen skråagar eller Middlebrook 7H10 eller 7H11 skåler, som viser tegn på *M. avium* skal testes. Testen kan utføres så snart vekst vises, og i løpet av den 60 dager lange inkubasjonstiden.

1. Koloniene plukkes med en 1 µl engangsøse, en podenål ("wire loop") eller tilsvarende. Fordi cellene etterpå skal resuspenderes i et mindre væskevolum, bør en ikke bruke prøvetakingsspinner.
2. Unngå å få med noe av det faste mediet.
3. Man kan på dette stadiet velge å rendyrke isolatet for å kontrollere at man benytter renkultur.

B. **Flytende medier.** Vekst i Middlebrook 7H9 buljong med turbiditet er lik eller høyere enn 1 McFarland (McFarland 1 Nephelometer Standard), kan testes med ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST. Pipetter 100 µl fra den godt blandede buljonguspensjonen til Lysing Reagent Tube som beskrevet nedenfor.

Materialer som medfølger

The ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST
Hologic artikkelnummer 102835

	20 tester
Probe Reagent (P)	4 x 5 rør
Lysing Tubes (LT)	1 x 20 rør

Materialer og utstyr som ikke medfølger

- 1 µl sterile engangsøser, podenåler ("wire loop"), eller tilsvarende for å plukke kolonier.
- Kontrollstammer (referansestammer)
- Vannbad eller tørrvarmebad* (60 °C ± 1 °C)
- Vannbad eller tørrvarmebad* (95 °C ± 5 °C)
- Mikropipetter (100 µl, 300 µl)
- Repeate pipettor (100 µl, 300 µl)
- Vortex mixer
- McFarland 1 Nephelometer Standard

* Varmeblokkene i tørrvarmebadet (Dry Heat Bath) må ha brønner som passer for 12 x 75 mm rør. Hologic Dry Heat Bath anbefales.

Utstyr tilgjengelig hos Hologic sin norske distributør

Hologic Leader 50i Luminometer
(Hologic artikkelnummer 103100i)

Hologic Ultrasonic Water Bath
(Hologic artikkelnummer 901104)

ACCUPROBE CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT
(Hologic artikkelnummer 102800)

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT (1200 tests)
(Hologic artikkelnummer 201791)

Dry Heat Bath (60 °C ± 1 °C)

Dry Heat Bath (95 °C ± 1 °C)

Dry Heat Bath (60 °C/95 °C ± 1 °C)

Hologic Ultrasonic Water Bath Rack
(Hologic artikkelnummer 104027)

Testprosedyre

A. KLARGJØRING AV UTSTYR

1. For optimal overføring av ultralyd (sonic energy), må vannet ha vært grundig avgasset ved bruk av følgende prosedyre:
 - a. Tilsett nok vann slik at ultralydbadet fylles opp til 1 cm fra toppen av beholderen.
 - b. Soniker i 15 minutter slik at vannet avgasses grundig.
2. Still en varmeblokk eller et vannbad på 60 °C ± 1 °C, og en annen varmeblokk eller et annet vannbad på 95 °C ± 5 °C.
3. Klargjør Hologic luminometeret for bruk. Kontroller at det er tilstrekkelig mengde av Detection Reagent I og Detection Reagent II til å kunne fullføre testene.

B. KONTROLLER

I hvert laboratorium bør positive and negative referansestammer rutinemessig testes i henhold til gjeldende bestemmelser. *M. avium*-kultur (f.eks. American Type Culture Collection, ATCC 25291) kan benyttes som positiv kontroll mens en *M. intracellulare*-kultur (f.eks. ATCC 13950) kan benyttes som negativ kontroll.

C. KLARGJØRING AV PRØVER

1. Merk tilstrekkelig antall Lysing Reagent Tubes for testing av isolatene og/eller kontrollene. Fjern, men behold korkene.
2. Pipetter 100 µl Reagent 1 (Lysis Reagent) og 100 µl Reagent 2 (Hybridization Buffer) til alle Lysing Reagent Tubes. **Dersom det er kultur fra flytende medium som skal testes, skal ikke Reagent 1 tilsettes Lysing Reagent Tubes.**
3. Overfør materiale fra fast medium, eller 100 µl av godt blandet buljongkultur, til de merkede Lysing Reagent Tubes som beskrevet i avsnittet "Prøvetaking og –klargjøring". Ved testing av vekst fra fast medium, snurres øsen eller podenålen i de fortyndede blandingene av Reagent 1 og Reagent 2 for å løsrive celler.
4. Kork Lysing Reagent Tubes og vortex kort.

D. LYSERING AV PRØVE

1. Senk rørene med Lysing Reagent Tubes ned i stativet (Ultrasonic Water Bath Rack) slik at væskeblandingen på bunnen av rørene holdes under-, mens korkene er over vannet. Senk stativet i ultralydbadet. RØRENE MÅ IKKE KOMME NÆR BUNNEN AV ULTRALYDBADET ELLER DENS SIDER.
2. Soniker i 15 minutter.
3. Sett Lysing Reagent Tubes, som inneholder de sonikerte organismene, i en varmeblokk eller et varmebad i 10 minutter ved $95\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$.
4. Ta Lysing Reagent Tubes forsiktig ut av varmeblokken eller vannbadet.

E. HYBRIDISERING

1. Åpne folieposen ved å skjære av toppen på posen. Ta ut tilstrekkelig antall Probe Reagent Tubes for å teste isolatene og/eller kontrollene. Lukk posen igjen ved å brette den åpnede enden flere ganger og bruk tape eller en klemme for å sikre lukkingen. **La tørremidlet forbli i posen.**
2. Merk et tilstrekkelig antall Probe Reagent Tubes for å kunne teste isolatene og/eller kontrollene. Fjern, men behold korkene.
3. Pipetter 100 µl lysert prøve fra Lysing Reagent Tubes til korresponderende Probe Reagent Tubes.
4. Kork Probe Reagent Tubes på nytt, og inkuber i 15 minutter ved $60\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ i et vannbad eller på en varmeblokk.

F. SELEKSJON

1. Fjern Probe Reagent Tubes fra vannbadet eller varmeblokken. Ta av, men behold korkene. Pipetter 300 µl Reagent 3 (Selection Reagent) til hvert rør. Sett korkene på rørene igjen og vortex for å blande godt.
2. Inkuber Probe Reagent Tubes i 5 minutter ved $60\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ i et vannbad eller på en varmeblokk.
3. Ta Probe Reagent Tubes ut av vannbadet eller varmeblokken og la dem stå ved romtemperatur i minst 5 minutter. Ta av korkene og kast dem. **Les av resultatene innen en time ved bruk av luminometeret.**

G. DETEKSJON

1. Velg riktig protokoll fra luminometer-softwarens meny.
2. Tørk utsiden av hvert rør ved hjelp av et fuktig papirhåndkle eller lignende, for å fjerne eventuelle urenheter, og sett rørene deretter inn i luminometeret slik det beskrives i instrumentmanualen.
3. Når analysen er fullført fjernes rørene fra luminometeret.

Merknader til prosedyren

- A. REAGENSER: Reagent 2 (Hybridization Buffer) kan presipitere. Oppvarming og blanding av løsningen ved $35\text{ °C} - 60\text{ °C}$ vil løse opp det utfelte stoffet.
- B. TEMPERATUR: Hybridiserings- og seleksjonsreaksjonene er temperaturavhengige. Det er derfor helt nødvendig å holde temperaturen i vannbadet eller varmeblokken innenfor det spesifiserte området.
- C. TID: Hybridiserings- og seleksjonsreaksjonene er tidsavhengige. Hybridiser i minst 15 minutter, men ikke i mer enn 20 minutter. Inkuber Probe Reagent Tubes under SELEKSJON-trinnet i minst 5 minutter, men ikke i mer enn 6 minutter.
- D. VANNBAD: Væskenivået i vannbadet må holdes gjennom hele prosessen for å sikre at Lysing Reagent Tubes er senket opp til, men ikke over forseglingsringen. Det må også sikres at hele volumet av flytende reagens i Probe Reaction Tubes er under vann.

- E. VORTEX: Det er avgjørende at man har en homogen blanding under trinnene KLARGJØRING AV PRØVER og SELEKSJON, spesielt etter at celler er tilsatt Reagent 1 og 2, og etter tilsetning av Reagent 3.
- F. FEILSØKING
1. Forhøyede negative kontrollverdier (*M. intracellulare*, ATCC 13950) på mer enn 10 000 RLU (Relative Light Units) med Leader luminometeret eller 300 PLU (Photometric Light Units) med AccuLDR (tidligere PAL) luminometeret, kan skyldes utilstrekkelig antall celler, uriktig sonikering, eller dersom en tester blandingskulturer eller gamle kulturer. Fordi blandingskulturer forekommer, kan man kontrollere for multiple kolonytyper ved å rendyrke på et egnet medium og inkubere.
 2. Lave positive kontrollverdier (*M. avium*, ATCC 25291) på mindre enn 30 000 RLU med Leader luminometeret eller 900 PLU med AccuLDR (tidligere PAL) luminometeret kan skyldes utilstrekkelig antall celler, uriktig sonikering, eller at en tester blandingskulturer eller gamle kulturer. Fordi blandingskulturer forekommer, kan man kontrollere for multiple kolonytyper ved å rendyrke på et egnet medium og inkubere.

Resultater

A. TOLKING AV RESULTATER

Tolking av ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST baseres på cut-off verdiene nedenfor. Prøver som gir signaler høyere eller lik disse cut-off verdiene regnes som positive. Signaler svakere enn disse cut-off verdiene regnes som negative. Resultater som ligger i området Repeat Range bør gjentas.

	AccuLDR (tidligere PAL)	Leader
Cut-off verdi	900 PLU	30 000 RLU
Repeat Range	600 - 899 PLU	20 000 - 29 999 RLU

B. KVALITETSKONTROLL OG RESULTATENES TROVERDIGHET

Negativ kontroll (f.eks. *M. intracellulare*, ATCC 13950) og positiv kontroll (f.eks. *M. avium* ATCC 25291) bør holde følgende verdier:

	AccuLDR (tidligere PAL)	Leader
Negativ kontroll	< 300 PLU	< 10 000 RLU
Positiv kontroll	> 900 PLU	> 30 000 RLU

Begrensninger

Metoden har vært utprøvd på ferske kulturer fra faste medier, og fra buljongkulturer angitt i avsnittet "Prøvetaking og -klargjøring". Testens egnethet har ikke vært prøvet på direkte klinisk prøvemateriale (f.eks. urin, avføringsprøver eller respiratoriske prøver).

Resultater ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST bør tolkes og vurderes sammenheng med øvrige laboratorie- og kliniske funn som er tilgjengelig for klinikerens.

Forventede verdier

ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST ble på tre forskjellige lokaliteter sammenliknet med standardmetoder for dyrking og biokjemiske metoder med henblikk på identifikasjon. På lokalitet 1, 2 og 3 testet man 120 isolater av *Mycobacterium avium* og 220 isolater fra 25 andre *Mycobacterium*-arter. På lokalitet 1 ble gass-væskekromatografi (GLC) benyttet i tillegg til standardmetodene for identifikasjon. Standardmetode for identifikasjon inkluderer vekstrate, koloniens morfologi, mikroskopi, og en rekke biokjemiske reaksjoner. I tillegg ble ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST sammenliknet med HPLC (High Performance Liquid Chromatography) på lokalitet 4, der en benyttet 97 *Mycobacterium*-stammer. 30 isolater ble identifisert som *Mycobacterium avium*, 31 som *Mycobacterium intracellulare*, og 36 som tilhørende 12 andre *Mycobacterium*-arter, ved hjelp av HPLC. Alle isolatene ble kategorisert som enten positive ($\geq 30\ 000$ RLU)

eller negative (< 30 000 RLU) med ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST. Variasjonsbredden for negative kulturer var fra 206 til 11 434 RLU o den var 52 151 til 739 861 RLU for positive kulturer. En sammenlikning av disse resultatene med standardmetoder for identifisering, GLC (lokalitet 1) og HPLC (lokalitet 4), er vist nedenfor.

ACCUPROBE / IDENTIFISERING VED DYRKING, GLC, og HPLC

AccuProbe Dyrkning	Pos Pos	Pos Neg	Neg Pos	Neg Neg	Sensitivitet/ Spesifisitet	Prosent overenstemmelse
Lokalitet 1	64	0	0	57	100 %/100 %	100 %
Lokalitet 2	5	0	0	116	100 %/100 %	100 %
Lokalitet 3	51	0	0	47	100 %/100 %	100 %
Lokalitet 4	29	0	1	67	96,7 %/100 %	99,0 %
Totalt	149	0	1	287	99,3 %/100 %	99,8 %

Ett AccuProbe-negativt, HPLC-positivt *M. avium*-isolat var sterkt positivt ved gjentatt testing med ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST.

Ytelseskarakteristikk

A. PREISISJON INNEN DEN ENKELTE KJØRING

Presisjon innen den enkelte kjøring ("intra-assay-presisjon") med ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST ble beregnet ved å teste to konsentrasjoner av ribosomalt RNA isolert fra *M. avium*, med 10 replikater i hvert oppsett.

Mycobacterium avium

Prøve	A	B
Antall replikater	10	10
Gjennomsnittlig respons	25 738	47 730
Standardavvik	445	668
Variasjonskoeffisient	1,7 %	1,4 %

B. PREISISJON MELLOM ULIKE KJØRINGER

Presisjon fra en kjøring til en annen ("inter-assay-presisjon") ble beregnet ved å teste enkeltprøver av de to samme konsentrasjonene med ribosomalt RNA fra *M. avium* under 12 påfølgende kjøringer.

Mycobacterium avium

Prøve	A	B
Antall replikater	12	12
Gjennomsnittlig respons	27 929	50 418
Standardavvik	1 465	2 833
Variasjonskoeffisient	5,2 %	5,6 %

C. SPESIFISITET

114 ATCC-isolater ble undersøkt med ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST. Disse isolatene representerte i alt 92 arter fra 41 slekter. Seksten isolater av *M. avium*, 49 isolater av 28 andre *Mycobacterium*-arter, og 65 isolater fra 40 andre slekter som representerte fylogenetisk forskjellige organismer, ble evaluert ved hjelp av ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST. Bare *M. avium*-isolatene ga positivt resultat med ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST. Andre *Mycobacterium*-arter, samt de andre fylogenetisk ulike artene, reagerte ikke når dette kitet ble benyttet.

D. GJENKJENNELSE

Ribosomalt RNA fra *M. avium* i konsentrasjoner varierende fra 5×10^{-4} µg til 1×10^{-1} µg pr. prøve ble testet i nærvær av 30 millioner celler fra enten *M. intracellulare*, *M. tuberculosis* eller *Nocardia asteroides*. Det ble ikke observert noen interferens med *M. avium*-signaler, og de andre tilstedeværende organismene reagerte ikke i ACCUPROBE MYCOBACTERIUM AVIUM CULTURE IDENTIFICATION TEST.

Litteratur

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. og 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 og 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 og 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. og 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. og 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. og 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 og D. J. Brenner.** 1984. Nucleic acid probe specific for members of the genus Legionella. p. 107-108. I C. Thornsberry, *et al.* (red.) Legionella: proceedings of the 2nd international symposium. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. **Musial, C. E., L. S. Tice, L. Stockman og 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 og 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 og 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 og 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**(Suppl.): 85-93.
16. **Sommers, H. M. og R. C. Good.** 1985. M., p. 216-248. I E. H. Lennette, *et al.* (red.) 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

© 1990-2017 Hologic, Inc. Med enerett.
102899F-01-NO Rev. 002
2017-05