Epidemiologie 1-06 19.1.2006 10:07 Str. 37
proLékaře.cz | 5.12.2026

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 55, 2006, č. 1, s. 37–40

Posouzení účinnosti metabolické kultivační rychlometody MGIT (manuální systém) pro záchyt mykobakterií ve srovnání s klasickou kultivační metodou

Kozáková B.

Technická spolupráce: Fričová J., Kočková I.
Zdravotní ústav se sídlem v Praze

Souhrn

Pro stanovení diagnózy tuberkulózy je vedle klinických příznaků, rentgenového vyšetření plic a kožního tuberkulinového testu rozhodujícím vodítkem průkaz původce onemocnění – *Mycobacterium tuberculosis* přímou mikroskopií z biologického materiálu a kultivací na pevných vaječných půdách a půdách tekutých (Ogawova, Löwensteinova-Jensenova, Šulova půda). Pomalý růst většiny mykobakteriálních druhů je limitujícím faktorem jak při potvrzení etiologie onemocnění, tak při následných laboratorních testech lékové citlivosti a druhové identifikace, na kterých závisí včasné zahájení léčby, stanovení léčebného režimu a protiepidemických opatření. Jednou z metod navržených k urychlení průkazu mykobakterií a vhodnou k zavedení do praxe v diagnostických laboratořích je kultivační metoda BD BBL (Becton Dickinson): BD-1 Becton Drive Franclin Lakes, NJ USA 07417, MGIT (MGIT-Mycobacteria Growth Indikator Tube suplement), který pro detekci iniciální fáze pomnožování mykobakterií v tekuté půdě, tj. v době, kdy ještě nelze růst makrokolonií vizuálně prokázat, využívá fluorescenční technologii. Fluorescenční látka (Tris, -diphenyl-1, 10-phenaltroline ruthenium chloride pentahydrate) je v tomto systému vázána silikonem na dně zkumavek s tekutým kultivačním médiem a úbytek kyslíku provázející růst mykobakterií vyvolává fluorescenci, jejíž intenzita je registrována UV transiluminátorem.

Klíčová slova: MGIT – *Mycobacterium tubercilosis* – NTM.

Summary

Kozáková B.: Comparison of Efficacy of the Rapid Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) Culture Method (Manual System) and Conventional Culture Method in Mycobacterial Detection

Diagnosis of tuberculosis is based on clinical symptoms, lung X-ray, skin tuberculin test and primarily on the detection of the causative agent *Mycobacterium tuberculosis* by direct microscopy of biological specimens and culture on solid egg media and in liquid media (Ogawa, Löwenstein-Jensen, Šula). Slow growth of most mycobacterial species is a limiting factor in both the confirmation of etiology and subsequent drug susceptibility tests and species identification that are of crucial relevance to early institution of treatment, selection of treatment regimen and implementation of antiepidemic measures. One of the methods proposed for more rapid detection of mycobacteria and suitable for use in routine diagnostic laboratories is the BD BBL MGIT culture system (Becton Dickinson, 1 Becton Drive, Franklin Lakes, NJ 07417, USA) based on fluorescence detection of the initial phase of mycobacterial multiplication at which macrocolony growth is still not visible. The fluorescent compound Tris, 4,7-diphenyl-1,10-phenalthroline ruthenium chloride pentahydrate is embedded in silicone on the bottom of tubes with liquid culture medium in which growing, actively respiring mycobacteria consume the oxygen and allow the fluorescence to be detected and visualized using a UV transluminator.

Key words: MGIT – *Mycobacterium tubercilosis* – NTM.

Materiál a metodika

Cílem této práce je posoudit účinnost metody MGIT (v našem případě se jedná o manuální systém) v porovnání s klasickou a kultivační metodou na pevných půdách (Löwenstein-Jensenova-LJ, Ogawova) a tekutých (Šulova) při vyšetřování biologického materiálu v podmínkách diagnostického provozu. Hodnocena je především citlivost a délka časového úseku mezi inokulací a detekcí pozitivních vzorků (TTD-Time To Detection). Za dobu od 1. 1. 2004 do 31. 5. 2005 bylo vyšetřeno celkem 572 klinických materiálů – 432 sput, 96 broncho-

Epidemiologie 1-06 19.1.2006 10:07 Str. 38
proLékaře.cz | 5.12.2026

alveolární laváže (BAL), 15 laryngeálních výtěrů(LV), 8 punktátů, 9krát moč, 3krát uzlina, 4krát hnis, 2krát pitevní materiál, 3krát klinický materiál (gynekologický materiál, výtěr uší, stěr z kůže). Metoda MGIT byla pro její ekonomickou náročnost použita jen na vyžádání ošetřujícího lékaře a vyšetřovaný materiál byl týž den paralelně vyšetřen standardní klasickou kultivační technikou na tekutých a pevných vaječných půdách (viz tab. 1).

Tab. 1. Podíl jednotlivých druhů klinických materiálů na celkovém počtu 572 vyšetřených současně klasickou kultivační metodou a systémem MGIT

Table 1. Distribution of 572 specimens, examined by both the conventional culture method and MGIT system, by type

Druh klin. materiálu:	Počet vzorků:
Sputum	432
BAL	96
LV	15
Punktáty	8
Moč	9
Uzlina	3
Hnis	4
Pitevní materiál	2
Jiný klin. materiál	3
Celkem	572
Druh klin. materiálu	Podíl v procentech
Materiál z dýchacích cest	94,9
Punktáty	1,3
Ostatní klinický materiál	3,67

Vzorek dodaný s požadavkem vyšetření metodou MGIT byl rozdělen na dvě části. Pro metodu MGIT byl dekontaminován metodou s N-acetyl-L cysteinem [1, 2, 7] a očkován do zkumavky s obohacenou Middelbrookovou půdou s indikátorem fluorescence, suplementem OADC pro urychlení růstu mykobakteriální primokultury a suplementem PANTA pro potlačení růstu neacidorezistentní mikroflóry. Naočkované půdy byly inkubovány při 37 °C a případný růst mykobakterií byl sledován detekčním přístrojem MICRO MGIT (BACTEC Micro-MGIT Fluorescence Reader) denně po dobu 42 dní. Pro ověření přítomnosti acidorezistentních tyčinek byl zhotoven ze sedimentu nátěr a v případě pozitivity byl sediment vyočkován na tekuté a pevné půdy pro identifikační testy a stanovení citlivosti na antituberkulotika, dále vyočkován na krevní agar (KA) (kultivace 24 hod.), z důvodu vyloučení kontaminace. Pro rychlou druhovou identifikaci byla použita metoda GEN Probe (pro naši laboratoř provádí SZÚ), jedná se o *Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium avium, Mycobacterium kansasii.*

Druhá část vzorku byla dekontaminována standardní metodou s laurylsulfátem sodným [2], ze sedimentu po centrifugaci byl zhotoven přímý nátěr pro fluorescenční mikroskopii, přímá mikroskopie je metodou nejjednodušší, nejrychlejší, ale málo citlivá [3]. Dekontaminovaný materiál byl očkován na dvě Löwensteinovy-Jensenovy a dvě půdy podle Ogawy a půdy byly inkubovány při 37 °C a hodnoceny po 3, 6, a 9 týdnech. Kultivace je metodou s vyšší citlivostí [4], avšak jak uvedeno, jsou k dispozici za 3,6, často za 9 týdnů (hodnocení kultivace do 21 dnů, 42 a 63 dnů).

Tab. 2. Přehled zachycených mykobakteriálních druhů a počty pozitivních izolátů získaných jednak celkem, jednak jednotlivými metodami

Table 2. Distribution of detected mycobacterial species and numbers of positive isolates detected by each method

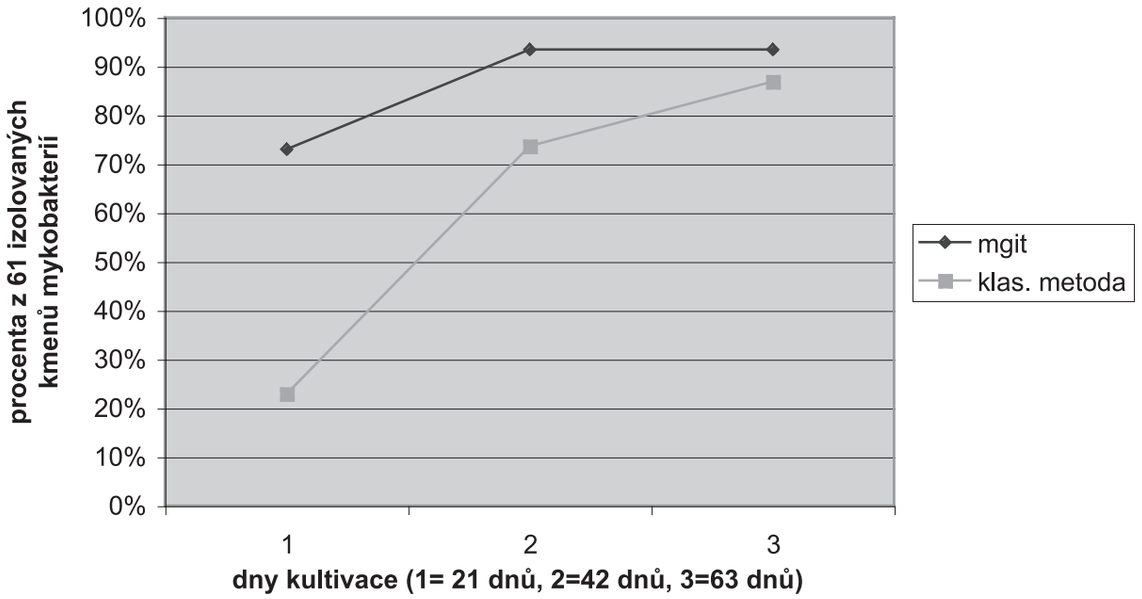
Druh mykobakteria	Počet izolátů				
	Celkem	MGIT	Klas. kultivace	Pouze MGIT	Pouze klas. kultivace
M. tuberculosis	51	49	45	6	2
M. avium	3	3	1	2	-
M. fortuitum	2	1	2	-	1
M. kansasii	2	2	2	-	-
M. xenopi	1	1	1	-	-
M. chelonae	1	-	1	-	1
M. flavescens	1	1	1	-	-
Celkem	61	57	53	8	4

Celkem 51 M. TBC
10 NTM

Metoda zpracování MGIT	57 (93,4 %)	*M. tuberculosis* + NTM
	49 (96,0 %)	*M. tuberculosis*
	8 (80,0 %)	NTM
Klas. kultivace	53 (86,9 %)	*M. tuberculosis* + NTM
	45 (88,2 %)	*M. tuberculosis*
	8 (80,0 %)	NTM
Pouze MGIT	8 (13,1 %)	*M. tuberculosis* + NTM
	6 (11,8 %)	*M. tuberculosis*
	2 (20,0 %)	NTM
Pouze klas. kultivace	4 (6, 7 %)	*M. tuberculosis* + NTM
	2 (3, 9 %)	*M. tuberculosis*
	2 (20,0 %)	NTM

Průměrný čas detekce pozitivních vzorků systému MGIT 14,4 dne
U klas. kultivace 31,2 dne

proLékaře.cz | 5.12.2026



Graf 1. Srovnání klasické kultivace a kultivace systémem MGIT prostřednictvím třítýdenní pozitivity vyjádřené v % z celkového počtu 61 izolátů zachycených oběma metodami
MGIT metoda – do 21 dne zachyceno 73 % pozitivů (45 pozitivů)
do 42 dne 93,4 % pozitivů (61 pozitivů)
Klas. metoda – do 21 dne zachyceno 22,9 % pozitivů (14 pozitivů)
do 42 dne zachyceno 73,7 % pozitivů (45 pozitivů)
do 63 dne zachyceno 86,9 %
MGIT kontaminace celkem: 66 z 572 vzorků tj. 11,48 %
Klas. kult.kontaminace celkem: 91 z 572 vzorků tj. 16,0 %
Pozitivní mikroskopie: 18 % z celkového množství vzorků (572).

Fig. 1. Comparison of efficacy of the rapid MGIT culture system and conventional culture method in mycobacterial detection based on 3-week positivity expressed in percentages of the total of 61 isolates detected by both methods

Výsledky

Cílem práce, jak již výše uvedeno, bylo posoudit účinnost metody BD BBL MGIT, který používá centrifugační dekontaminační metodu s N-acetyl-L cysteinem, ke kultivaci modifikovanou Middlebrookovu tekutou půdu se suplementy OADC a PANTA s klasickou kultivací na pevných půdách (Löwensteinova-Jensenova a Ogawova).

Celkem bylo vyšetřeno oběma metodami 572 vzorků klinických materiálů, z nichž bylo izolováno celkem 61 (10,7 %) mykobakteriálních kmenů (tab. 2) (51 *Mycobacterium tuberculosis*, 10 NTM – Non Tuberculosis Mycobacteria), z nichž 18 (34,6 %) mělo pozitivní přímou mikroskopii fluorescenční metodou. Systémem MGIT bylo zachyceno 57 pozitivních nálezů (93,4 %) – 49 *Mycobacterium tuberculosis* (96 %) a 8 NTM (80 %). Klasickou kultivací 53 izolátů (85 %) – 45 *Mycobacterium tuberculosis* (88,2 %), a 8 NTM (80 %).

V případě NTM byly výsledky shodné. Průměrný čas detekce pozitivních vzorků byl u systému MGIT 14,4 dne, u klasické kultivace 31,2 dne. Velmi podstatné je také zjištění, že po 21 dnech kultivace bylo systémem MGIT zachyceno 73 % z celkového počtu 61 izolovaných bakterií, zatímco klasickou kultivací bylo po stejně dlouhé inkubaci zachyceno pouze 22,9 % mykobakterií z tohoto počtu (viz graf 1).

Procento kontaminovaných vyšetření bylo během sledovaného období u systému MGIT (11,5 %) a u klasické kultivace asi (16 %).

Diskuse

Při porovnání kultivačního systému pro záchyt mykobakterií MGIT s klasickou kultivací na pevných a tekutých půdách byla hodnocena především citlivost obou metod a rychlost detekce pozitivních vzorků. Kromě toho však byla sledována u obou metod též úroveň kontaminace vzorků nespecifickou flórou. Ve všech těchto sledovaných kritériích byly výsledky dosažené systémem MGIT lepší.

Z celkového počtu 61 izolovaných kmenů mykobakterií (tab. 2) systém MGIT zachytil 57 (93,4 %), zatímco klasickou kultivací 53 (86,9 %). Ještě citlivější byl systém MGIT při záchytu *Mycobacterium tuberculosis*, kdy z celkového počtu 51 izolátů zachytil 49 (96 %), oproti 45 (88,2 %) zachy-

Epidemiologie 1-06 19.1.2006 10:07 Str. 40
proLékaře.cz | 5.12.2026

cených klasickou kultivací. Při záchytu NTM byly výsledky u obou metod stejné, zřejmě vzhledem k relativně malému množství vzorků. Zajímavé je i porovnání počtu izolátů, které byly zachyceny pouze jednou z obou metod (tab. 2). U *M. tuberculosis* bylo pouze systémem MGIT zachyceno 6 kmenů zatímco klasickou kultivací 2. U NTM byly pouze systémem MGIT zachyceny 2 kmeny, pouze klasickou kultivací také 2 kmeny, výsledek rovněž stejný, důvod stejný jak výše uvedeno.

Při porovnání rychlosti detekce pozitivních vzorků bylo zjištěno, že průměrný čas detekce pozitivních vzorků byl u systému MGIT kratší – 14,4 dne, zatímco při klasické kultivaci to bylo 31,2 dne. Velmi podstatná je též skutečnost, že do 21 dnů kultivace bylo metodou MGIT zachyceno 73 % o z celkového počtu 61 izolovaných mykobakterií, zatímco klasickou kultivací to bylo pouze 22,9 % (graf 1).

Také úroveň kontaminace nespecifickou flórou byla u systému MGIT nižší (11,5 %) než u klasické asi (16 %). Je to patrně důsledek velmi vhodného složení suplementu s obsahem antimikrobních látek PANTA (Polymyxin B, Amphotericin B, Nalidix acic, Trimethoprim, Azlocillin) [2, 7], který je přidáván do MGIT zkumavek před inokulací vyšetřovaným biologickým materiálem. Vzhledem k relativně vysokým hodnotám kontaminace jsme přistoupili k prodloužení doby dekontaminace u laurylsulfátové metody z 20 na 30 minut a u metody NALC-NaOH z 30 na 35 minut.

Všechny tyto jmenované výhody systému MGIT oproti klasické kultivaci by neměly být důvodem pro opuštění klasické kultivační metody. Optimálních výsledků lze dosáhnout právě kombinací obou sledovaných metod, které se navzájem vhodně doplňují [5]. Systém MGIT nabízí i další možnost zrychlení diagnostiky tuberkulózy. Tou je test citlivosti izolovaných kmenů *Mycobacterium tuberculosis* na antituberkulotika metodou SIRE. Tato metoda umožňuje stanovení citlivosti na 4 základní antituberkulotika (STM, INH, RIF, EMB) pomocí systému MGIT maximálně za 2 týdny (14 dní).

Jak výše uvedeno, vzhledem k ekonomické náročnosti v naší laboratoři používáme k rychlé kultivaci pouze manuální systém MGIT a vyšetřujeme tak pouze vzorky na vyžádání ošetřujícího lékaře. Ve srovnání s laboratořemi, kde využívají automatický systém BACTEC MGIT 960 a vyšetřují tímto systémem podstatně vyšší počty vzorků se může zdát, že manuální metodou je záchyt především NTM malý. Je to zřejmě tím, že touto metodou nejsou vyšetřovány vzorky, které jsou pozitivní v klasické kultivaci.

Závěr

Systém MGIT vykazuje výrazně vyšší citlivost u nás jednoznačně pro *M. tuberculosis*, než konvenční kultivace na pevných a tekutých půdách a také výrazně kratší čas detekce pozitivních vzorků. Je proto jasným přínosem v bakteriální diagnostice tuberkulózy, ale určitě i u ostatních mykobakteriálních onemocnění.

Optimálních výsledků lze dosáhnout kombinací obou sledovaných metod, které se navzájem vhodně doplňují.

Literatura

1. Kolektiv autorů: Doporučené standardní metody v mikrobiologii mykobakteriálních infekcí. Národní referenční laboratoř pro mykobakterie, SZÚ, ve spolupráci s firmou Trios s.r.o., Praha 1998.
2. BD BBL MGIT, příbalový leták k metodice, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA.
3. http://www2.provlab.ab.ca/mycob/afbstain/afb tutorial.htm
4. American Thoracis Society Medical Section of American Lung Association: Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis (American Review of Respiratory Disease Vol. 142, No. 3, Sept 1990, pp. 725–735).
5. **Chien, H. P., Yu M. C., Wu, M. H. et al.** Comparison of the BACTEC MGIT 960 system with Löwenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from clinical specimen. Int J Tuberc Lung Dis 9, 2000, 4 (9), 866–870.
6. Becton Dickinson and Company: BACTEC MGIT 960 AST instrukce (pro testování citlivosti) – uživatelský manuál (August, 1999, Document number: MA-0126, Revision: New, Catalog Number: 445969).
7. Becton Dickinson and Company: BACTEC MGIT 960 System – uživatelský manuál (june, 1998, Document number: MA – 0117, Revision: A, Catalog Number: 4405876).

RNDr. Bohumila Kozáková
Zdravot. ústav – odbor mikrobiologie
Rybalkova 39
100 01 Praha 10
e-mail: bohumila.kozakova@zupraha.cz