

항산균 배양에서 BACTEC MGIT 960 System의 유용성 및 MGIT 양성배지에서 결핵균 진단을 위한 TB Ag MPT64 면역발색법의 유용성

이승훈¹, 이민정¹, 이정미¹, 임수진¹, 이승준¹, 김유은¹, 조유지^{1,3},
정이영^{1,3}, 김호철^{1,3}, 이종덕^{1,3}, 김선주^{2,3}, 황영실^{1,3}

경상대학교 의학전문대학원 ¹내과학교실, ²진단검사의학교실, ³건강과학연구원

Usefulness of the BACTEC MGIT 960 System for Mycobacterial Culture and TB Ag MPT64 Immunochemical Assay to Identify *Mycobacterium tuberculosis*

Seung Hun Lee¹, Min Jeong Lee¹, Jeong-Mi Lee¹, Su Jin Yim¹, Seung Jun Lee¹,
You Eun Kim¹, Yu Ji Cho^{1,3}, Yi Yeong Jeong^{1,3}, Ho Cheol Kim^{1,3}, Jong Deog Lee^{1,3},
Sun Joo Kim^{2,3}, Young Sil Hwang^{1,3}

Departments of ¹Internal Medicine, ²Laboratory Medicine, ³Gyeongsang Institute of Health Sciences,
School of Medicine, Gyeongsang National University, Jinju, Korea

Background: This study was conducted to evaluate the usefulness of the BACTEC MGIT (Mycobacterium Growth Indicator Tube) 960 system for mycobacteria culture and immunochemical assay to identify *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) in positive MGIT culture.

Methods: Mycobacteria-culture-positive cases were retrospectively analyzed from December 2010 to July 2011. The detection rates and the recovery times of the mycobacteria between the Ogawa media and the MGIT were compared. An immunochemical assay (ICA) (SD BIO-LINE) was also performed in the positive MGIT culture for identification, and the results were compared with those of the Ogawa media in the Korea National Tuberculosis Association.

Results: Among the 261 patients (M:F, 168:93; mean age, 61.6±17.16 yrs), 450 specimens (sputa, 365; bronchial washing, 61; and pleural effusion, 24) were found positive with mycobacteria. Mycobacteria were grown both on the MGIT and Ogawa media in 310 cases (68.9%); only on the MGIT in 115 cases (22.6%); and only on the Ogawa media in 25 cases (5.5%) ($p<0.05$). The recovery time was 28.2±8.9 days in the Ogawa media and 11.1±5.8 days in the MGIT ($p<0.05$). Among the 127 cases from the positive MGIT culture, all 92 cases that were confirmed as MTB cases by the Korea National Tuberculosis Association were identified as MTB by ICA, with 100% sensitivity.

Conclusion: MGIT increases the detection rate and shortens the recovery time of mycobacteria in clinical respiratory specimens, and the TB Ag MPT64 kit using ICA is useful in identifying MTB in a positive MGIT culture.

Key Words: MGIT, *Mycobacterium tuberculosis*, Immunochemical assay, TB Ag MPT64

Received: August 28, 2012, Accepted: October 19, 2012

교신저자: 김호철, 660-302, 경상남도 진주시 칠암동 90
경상대학교 의학전문대학원 내과학교실
Tel: (055) 750-8684, Fax: (055) 750-8618
E-mail: hochkim@gnu.ac.kr

서론

결핵은 전세계적인 보건학적 문제이며, 매년 9백만명 이
상의 새로운 환자가 발생하고, 1백만명 이상이 사망하는 심

각한 감염성 질환이다.¹ 국내에서는 2009년 한해 동안 결핵 신환 발병률이 인구 10만 명당 97명으로 다른 선진국에 비해 매우 높은 편이고, 20대 젊은 층과 70대 이상의 고령군에서 높은 신환 발병률을 보이는 양극 형태를 보이고 있다.²

결핵은 전염성 질환이기 때문에 신속하고 정확한 진단 및 치료가 필요하며, 진단을 위해서는 배양을 통한 균동정이 필수적이다. 액체배지를 이용한 배양은 고식적인 고체배지보다 상대적으로 높은 검출률을 보이고 신속하게 결과를 얻을 수 있는 장점이 있다.^{3,5} 이에 미국질병관리 본부와 세계보건기구는 액체배지를 이용한 항산균 배양을 권고하고 있고,⁶ 국내에서도 많은 병원에서 도입하여 사용 중이며, 이에 대한 연구 결과가 발표되었다.⁷⁻¹¹

Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) 960 System (Becton Dickinson, USA)은 액체배지에서 항산균이 자라면서 산소가 소모되어 분리된 형광물질을 센서가 감지하여 결핵균을 포함한 항산균의 배양 여부를 자동으로 확인하는 시스템으로 가장 흔히 사용되고 있는 항산균 액체배지 시스템이다.^{3,12} MGIT 시스템은 배양여부를 신속하게 확인할 수 있지만, 결핵균과 비결핵항산균의 감별을 위해서는 추가적인 검사가 필요하게 된다.

결핵균과 비결핵항산균의 감별검사는 적절한 치료를 위해 매우 중요하며, MPT64는 결핵균과 *Mycobacterium bovis* 등 일부 아균주의 배양 검체나 조직에서 감지될 수 있는 것으로 알려져 있고, 결핵균과 비결핵항산균의 감별 진단 시 유용하게 사용될 수 있다.¹³⁻¹⁶ 최근 Mouse monoclonal anti-MPT64 antibody를 이용한 면역발색법(TB Ag MPT64; SD, Yong-In, Korea)이 개발되어 MGIT 양성배지에서 결핵균과 비결핵항산균을 빠르고 간단하게 감별할 것으로 기대할 수 있다. 이에 본 연구는 호흡기 검체의 항산균 배양에서 MGIT 960 system의 유용성을 평가하고 면역발색법을 이용한 TB Ag MPT64 키트가 결핵균과 비결핵항산균의 감별에 유용 한지를 평가하기 위한 것이다.

재료 및 방법

1. 대상 환자

2010년 12월부터 2011년 7월까지 경상대학교병원에 내원하여 결핵이 의심되어 호흡기검체(객담, 기관지세척액, 늑막액)로 항산균 배양검사를 시행한 환자 중에서 고체배지(Ogawa) 또는 액체배지(MGIT 960)에서 항산균이 배양된 환

자를 대상으로 후향적으로 조사하였다.

2. 항산균 도말 및 배양검사

검체를 동량의 4% NaOH과 섞고 실온에서 15분간 두었다가 인산완충용액(0.067 M, pH 6.8) 2-3배를 첨가하여 다시 섞어주었다. 검체는 4℃, 4,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 침전물(<1 mL)을 회수하여 검사를 시행하였다. 항산균 도말은 Auramine 형광염색법을 이용하여 미국질병예방통제국의 기준에 따라 판독하였다.⁶ 형광염색에서 양성을 보인 경우 Ziehl-Neelsen 염색을 시행하여 다시 확인하였다. 배양 검사는 0.5 mL의 검체를 3% Ogawa 배지에 접종하고 대기조성 배양기에서 37℃에서 최대 8주까지 배양하였으며, 매주 2회 양성 여부를 육안으로 확인한 다음 집락이 관찰되면 동정을 시행하였다. MGIT 배지는 제조사의 지침에 따라 사용 당일 PANTA (Becton Dickinson, Sparks, MD USA)를 보충하여 검체 0.5 mL를 접종하였으며, MGIT 960 system에서 6주간 배양하였다. 장비에서 양성 신호를 보이면 Ziehl-Neelsen과 auramine-rhodamine 염색으로 항산균 양성 여부를 확인하였다.

3. 항산균 동정

Ogawa 배지와 MGIT에서 양성이 확인되면 항산균염색을 실시하여 항산균인 것을 확인하였다. Ogawa 배지에서 결핵균과 비결핵항산균의 감별은 육안적으로 집락을 확인한 다음 TB Ag MPT64 키트를 이용한 면역발색법을 이용하여 동정하였다. MGIT에서 양성인 경우에도 TB Ag MPT64 키트를 이용한 면역발색법으로 동정을 하고, Ogawa 배지에서 동정한 결과와 비교하였다. MGIT 양성이고 항산균도말 양성인 검체는 Ogawa 배지에 계대배양하여 동정과 약제 감수성 검사에 이용하였다.

4. TB Ag MPT64 키트를 이용한 면역발색법(Immunochromatographic assay)

MGIT에서 양성인 경우 검체에서 균락이 보이는 것을 확인하고, 소량의 집락을 채취한 후 TB Ag MPT64 키트에 넣고 약 15분 후 키트를 확인하여 빨간색 선이 두 개가 보일 경우는 결핵균으로, 빨간색 선이 한 개가 보일 경우(대조선만 보이는 경우는 비결핵항산균으로 판단하였다. 대조선이 보이지 않으면 재검사를 시행하였다(Fig. 1). TB Ag MPT64 키트를

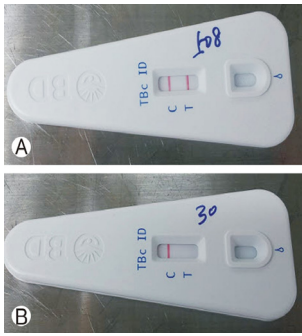


Fig. 1. Identification of the *M. tuberculosis* complex by the TB Ag MPT64 immunochromatographic assay (ICA) kit. (A) positive two band indicating *M. tuberculosis*, (B) negative one band indicating nontuberculous mycobacterium.

이용한 면역발색법의 유용성을 검증하기 위해 MGIT 양성배지 중에서 대한결핵협회에 동정과 약제 감수성 검사를 의뢰하여 최종적으로 결핵균 또는 비결핵항산균으로 감별된 결과를 확인하여 TB Ag MPT64 키트를 이용한 면역발색법의 결과와 동일 한지 확인하였다.

5. TB/NTM real-time PCR법

Real-QTM MTB & NTM 키트(Biosewoom Inc., Seoul, Korea)를 이용하여 제조사의 지침에 따라 시행하였다. 전처리한 검체 1 mL를 원심분리하여 상층액을 제거한 다음 인산완충용액과 멸균된 증류수를 순서대로 첨가하여 각각 원심분리를 한 다음 침전물을 얻었다. DNA 추출은 침전물에 추출완충용액을 섞고, 56°C에서 15분간 반응시키고 간헐적으로 혼합한 뒤, 100°C에서 8분간 가열한 다음 원심분리하여 상층액 2.5 L를 얻었다. PCR은 튜브에 2X PCR mixture를 12.5 L 넣고, 결핵균과 비결핵항산균, Internal control (IC) primer/probe 혼합액을 넣은 다음 추출한 검체 DNA 2.5 L를 첨가하고, Roter-Gene™ 3,000/6,000 (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)을 이용하여 50°C 2분, 95°C 10분의 변성단계 후 95°C 15초, 67°C 45초 동안 40주기로 시행하였다. 결과는 각각의 채널에서 파장을 확인하여 CT값을 구하고, 35 미만인 경우에 양성으로 판독하였다.

6. 통계 처리

값은 평균과 표준편차로 표시하였다. 각각 배지의 배양 양성률의 차이는 chi-square test 또는 Fisher’s exact test를 이용하였고, 배양 시간의 차이는 unpaired t-test를 이용하였다. *p*값이 0.05 이하인 경우 의미있는 것으로 판단하였고, SPSS 18.0 (SPSS, Chicago, IL, US) 통계 프로그램을 이용하였다.

Table 1. Recovery rate of MGIT and Ogawa media

	No. (%) of positive cultures for		
	MTB	NTM	All mycobacteria
MGIT & Ogawa	226 (74.59)	84 (54.14)	310 (68.89)
MGIT only	69 (22.77)	46 (31.29)	115 (25.56)
Ogawa only	8 (2.64)	17 (11.57)	25 (5.55)
Total	303 (100)	147 (100)	450 (100)

MGIT: Mycobacteria Growth Indicator Tube, MTB: Mycobacterium tuberculosis, NTM:nontuberculous mycobacteria.

결 과

1. 대상 환자 및 배양 결과

총 2,154명의 환자에서 3,698회 항산균배양을 실시하였으며, 261명의 환자(남:여=168:93, 평균나이 61.6±17.16세), 450검체(객담 365, 기관지세척액 61, 늑막액 24)가 항산균 배양 양성을 보였다. 450검체 중 결핵균이 303 (67.3%) 검체에서 동정되었고, 비결핵항산균이 147 (32.7%) 검체에서 동정되었다.

2. 배양 양성률

450개의 검체에서 MGIT와 Ogawa 배지에서 동시에 배양된 경우는 310예(68.9%)였으며, MGIT배지 또는 Ogawa 배지에서만 배양된 경우는 각각 115예(25.5%), 25예(5.5%)로 MGIT 배지에만 배양된 경우가 의미있게 많았다(*p*<0.05). MGIT에서 배양 양성률은 Ogawa 배지에 비해 결핵균 및 비결핵항산균 모두에서 높았다(Table 1). 항산균 도말검사에서 음성을 보인 270 검체에서 MGIT 배지와 Ogawa 배지 배양 양성을 보인 경우는 각각 90.7%, 66.2%로 MGIT 배지에서 배양 양성률이 의미있게 높았으며(*p*<0.05), PCR과 도말검사 모두 음성인 89예의 검체에서도 MGIT 배지와 Ogawa 배지 배양 양성률은 각각 95.5, 71.9%로 MGIT 배지가 배양 양성률이 의미있게 높았다(*p*<0.05, Table 2).

3. 배양 양성 검출시간

Ogawa 배지와 MGIT 배지에서 항산균 배양 양성 검출시간은 평균 28.2±8.9일, 11.1±5.8일이었으며, 결핵균과 비결핵성 항산균 모두에서 의미있게 MGIT 배지에서 짧았다(*p*<0.05, Table 3).

Table 2. Recovery of MGIT and Ogawa media for negative AFB stain and negative PCR specimens

	No. (%) of positive cultures for	
	MGIT	Ogawa
Negative for AFB stain (n=270)	245 (90.7)	179 (66.2)
Negative for AFB stain and PCR (n=98)	94 (95.9)	73 (74.5)

AFB: acid fast bacilli, PCR: polymerase chain reaction, MGIT: Mycobacteria Growth Indicator Tube, MTB: Mycobacterium tuberculosis, NTM: nontuberculous mycobacteria.

Table 3. Duration of time (days) to detect mycobacteria in MGIT and Ogawa media

	Days to detection (range)		
	MTB (N=303)	NTM (N=147)	Total (N=450)
Ogawa	26.9±8.1 (11-58)	31.5±10.2 (5-56)	28.2±8.9 (5-56)
MGIT	11.7±5.5 (1-38)	9.6± 6.1 (4-51)	11.1±5.8 (1-38)

MGIT: Mycobacteria Growth Indicator Tube, MTB: Mycobacterium tuberculosis, NTM: nontuberculous mycobacteria.

4. MGIT 양성배지에서 TB Ag MPT64 키트를 이용한 면역발색법의 유용성

MGIT 배지에서 양성을 보이고 대한결핵협회에서 동정과 약제 감수성 검사를 시행한 127개의 검체 중 결핵균으로 판정된 경우는 92예였으며, 검체 모두에서 TB Ag MPT64 키트가 결핵균 양성으로 나왔다. 또한 비결핵항산균이 동정된 35예에서는 모두 결핵균 음성으로 나왔다(Table 4).

고 찰

본 연구는 항산균배양에 액체배지인 MGIT의 유용성과 MGIT 배양 양성일 경우 결핵균 감별을 위한 면역발색법 키트의 유용성을 평가한 것으로 항산균 배양에 MGIT가 고체배지에 비해 신속하고 높은 배양 양성률을 보여 기존 연구와 부합되는 결과를 보였으며, MGIT 양성배지에서 면역발색법을 이용한 TB Ag MPT64 키트가 결핵균과 비결핵항산균을 감별하는데 유용한 것으로 나타났다. 결핵균과 비결핵항산균의 배양 양성률은 MGIT가 Ogawa 배지에 비해 월등히 높았고, 도말 음성, PCR 음성인 검체에서도 배양 양성률은 상당한 차이를 보였다. 하지만 고체배지에서만 항산균이 배양된 경우도 450예의 검체에서 25예 정도를 차지하므로 항산균 배양을 위해서는 액체 배지와 고체배지를 병합해서

Table 4. TB Ag MPT64 ICA assay in MGIT positive media

ICA		MGIT culture result	
		MTB	NTM
	+	92	0
	-	0	35

ICA: immunochromatographic assay, MGIT: Mycobacteria Growth Indicator Tube, MTB: Mycobacterium tuberculosis, NTM: nontuberculous mycobacteria.

사용하는 것이 가장 적절한 방법으로 생각할 수 있겠다.

본 연구에서 MGIT 항산균배양 검출기간은 평균 11.1일(1-38일) 걸렸다. 이 결과는 기존에 국내에 발표된 항산균의 평균 검출 기간인 11.4-12.8일과 비슷한 수준이다.^{7-8,17}

항산균 배양 시간 단축은 임상적으로 중요한 의미를 가진다. 고체배지의 경우는 배양 및 약제 내성 검사를 확인하는데 약 4달 정도의 시간이 걸리는 경우가 많은데, 이 경우 약제 내성 결핵이 의심되는 환자는 내성 여부를 확인하는데 시간이 많이 걸리므로 치료에 어려움을 겪는 경우가 있을 수 있다. 하지만 액체배지는 배양시간을 단축할 수 있으므로 치료 결정을 신속하게 할 수 있는 장점이 있다.

액체 배지를 사용하는 MGIT에서는 배지 내 오염균이 증식하기 쉬운 영양성분이 풍부하여,¹⁸ 고체 배지에 비해 오염률이 높은 것으로 알려져 있다.^{12,17,19} 본 연구에서 MGIT의 오염률은 5.1%로 Ogawa 배지의 3.5%에 비해 높은 것으로 나타났지만, 외국에서 보고된 6.4-17.1%의^{5,12,17,20-22} 오염률에 비해 비교적 낮은 수치를 보이고 있다. 국내에서 발표된 MGIT의 오염률은 본 연구와 비슷한 5% 정도를 보고^{9,23}하기도 하고, 10% 이상의 오염률이 보고되어 있기도 하다.^{8,24}

오염률을 줄이는 것이 임상적으로는 중요한데, MGIT에 섞는 항생제 PANTA (Polymyxin B, Amphotericin B, Nalidixic acid, Trimethoprim, Azlocillin)의 조합을 vancomycin, amphotericin B, nalidixic acid로 교체하여 검출률과 검출시간의 차이 없이 오염률을 10.7%에서 5.4%로 줄일 수 있었다는 보고가 있다.²⁵ 또한, 최근에는 단순히 PANTA의 농도를 2배 증가 시킴으로써 오염률을 2배 이상 감소시킬 수 있다고 보고되고 있다.²⁶

MGIT는 항산균이 자라게 되면 배지 내에 있는 산소가 소모되면서 분리되는 형광물질을 센서가 감지하여 항산균의 배양 여부를 알 수 있는 것으로 양성이라고 해도 결핵균과 비결핵항산균을 감별할 수는 없다. 국내에서도 예전에 비해 비결핵항산균의 비율이 점점 높아지고 있는 상황에서 항산균의 배양을 높이기 위한 액체 배지의 이용도 중요하지

만, 빠른 감별이 필요하게 되는데 단순한 항산균 염색은 감별이 되지 않고 niacin 검사와 같은 전통적인 생화학적 검사는 일정한 결과가 나오지 않는 경우가 있다.²⁷ 또한 PCR, 화학발광 탐식자법(Chemiluminescent DNA probes), 핵산증폭(nucleic acid amplification), 고성능 액체 크로마토그래피(high-performance liquid chromatography), 16S rRNA 유전자 서열 분석 등은 유용한 방법이지만, 사용이 복잡하고 비용이 많이 든다는 단점이 있다.^{28,29}

본 연구에서 면역발색법을 이용한 TB Ag MPT64 키트는 결핵균과 비결핵항산균의 감별에 매우 높은 예민도와 특이도를 가진 것으로 나왔다. 또한 검사 결과를 확인하는데 15분 정도의 시간으로 충분하며 검사 시 특별한 기술이 필요하지 않고 비용이 저렴하다는 장점이 있다. 본 연구에서 사용한 mouse monoclonal anti-MPT64 antibody에서 MPT-64 항원은 *M. tuberculosis*와 *M. bovis*의 일부 균만이 배양액에서 발견되는 것으로 알려져 있어 특이도가 뛰어나 임상적으로 주요한 항산균인 결핵균을 빠르고 간단한 방법으로 동정할 수 있는 방법으로 여겨진다.^{13,15,30} 비결핵항산균 중에서 MPT-65 면역발색법에 양성을 보일 수 있는 균은 *Mycobacterium marinum*의 일부 균종 또는 *Mycobacterium flavescens* 균종에 양성을 보일 수 있는 것으로 되어 있지만, 결핵균과는 육안적으로 감별이 쉽게 되는 것으로 되어 있다.³¹

본 연구는 항산균 배양에 MGIT는 고체배지에 비해 배양 양성률이 높고 검출시간을 단축할 수 있는 유용한 방법이며, MGIT 양성 배지에서 면역발색법을 이용한 TB Ag MPT64 키트가 결핵균과 비결핵항산균의 감별에 유용하다는 것을 보여 주고 있다.

참고문헌

- World Health Organization. Tuberculosis [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2011 [cited 2011 Oct 7]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>
- Korea Center for Disease Control and Prevention. Annual report on the notified tuberculosis patients in Korea 2009. Seoul: Korea Centers for Disease Control and Prevention; 2010. p. 9-37.
- Badak FZ, Kiska DL, Setterquist S, Hartley C, O'Connell MA, Hopfer RL. Comparison of mycobacteria growth indicator tube with BACTEC 460 for detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1996;34:2236-9.
- Cornfield DB, Beavis KG, Greene JA, Bojak M, Bondi J. Mycobacterial growth and bacterial contamination in the mycobacteria growth indicator tube and BACTEC 460 culture systems. *J Clin Microbiol* 1997;35:2068-71.
- Hanna BA, Ebrahimzadeh A, Elliott LB, Morgan MA, Novak SM, Rusch-Gerdes S, et al. Multicenter evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for recovery of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 1999;37:748-52.
- Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1376-95.
- Bae E, Im JH, Kim SW, Yoon NS, Sung H, Kim MN, et al. Evaluation of combination of BACTEC mycobacteria growth indicator tube 960 system and Ogawa media for mycobacterial culture. *Korean J Lab Med* 2008;28:299-306. Korean.
- Choi YM, Lee MH. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for the recovery of mycobacteria. *Korean J Clin Pathol* 2000;20:56-61. Korean.
- Yi JY, Kim JP, Shin JH, Suh SP, Ryang DW. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* using BACTEC mycobacteria growth indicator tube (MGIT) 960 system: comparison with BACTEC 460 TB system and Ogawa media. *Korean J Clin Pathol* 2000;20:384-91. Korean.
- Joung US, Jeong J, Lee SH, Kim SR. Comparison of mycobacterial culture by *Mycobacterium* growth indicator tube and Ogawa media. *Korean J Clin Microbiol* 2004;7:135-8. Korean.
- Bang HI, Choi TY, Shin JW. Comparison of Ogawa media, BACTEC MGIT 960 System and TB/NIM real-time PCR for detecting *Mycobacterium* species. *Tuberc Respir Dis* 2011; 71:249-53.
- Tortoli E, Cichero P, Piersimoni C, Simonetti MT, Gesu G, Nista D. Use of BACTEC MGIT 960 for recovery of mycobacteria from clinical specimens: multicenter study. *J Clin Microbiol* 1999;37:3578-82.
- Abe C, Hirano K, Tomiyama T. Simple and rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol* 1999;37:3693-7.
- Hasegawa N, Miura T, Ishii K, Yamaguchi K, Lindner TH, Merritt S, et al. New simple and rapid test for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex: a multicenter study. *J Clin Microbiol* 2002;40:908-12.
- Nagai S, Wiker HG, Harboe M, Kinomoto M. Isolation and partial characterization of major protein antigens in the culture fluid of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1991; 59:372-82.
- Purohit MR, Mustafa T, Wiker HG, Mørkve O, Sviland L. Immunohistochemical diagnosis of abdominal and lymph node tuberculosis by detecting *Mycobacterium tuberculosis* complex specific antigen MPT64. *Diagn Pathol* 2007;2:36.
- Lee JJ, Suo J, Lin CB, Wang JD, Lin TY, Tsai YC. Comparative evaluation of the BACTEC MGIT 960 system with solid medium for isolation of mycobacteria. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7:569-74.
- Stager CE, Libonati JP, Siddiqi SH, Davis JR, Hooper NM, Baker JF, et al. Role of solid media when used in conjunction with the BACTEC system for mycobacterial isolation and identification. *J Clin Microbiol* 1991;29:154-7.
- Somoskövi A, Ködmön C, Lantos A, Bártfai Z, Tamási L, Füzy J, et al. Comparison of recoveries of *Mycobacterium tuberculosis* using the automated BACTECMGIT 960 system, the

- BACTEC 460 TB system, and Löwenstein-Jensen medium. *J Clin Microbiol* 2000;38:2395-7.
20. Williams-Bouyer N, Yorke R, Lee HI, Woods GL. Comparison of the BACTEC MGIT960 and ESP culture system II for growth and detection of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 2000; 38:4167-70.
 21. Scarparo C, Piccoli P, Rigon A, Ruggiero G, Ricordi P, Pier-simoni C. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 in compar-ison with BACTEC 460 TB for detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;44:157-61.
 22. Kanchana MV, Cheke D, Natyshak I, Connor B, Warner A, Martin T. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for the recovery of mycobacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 37:31-6.
 23. Kim YS, Jo YH, Lee HJ, Suh JT, Lee YJ. Comparison of the MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) with Ogawa media for recovery of mycobacteria. *Korean J Clin Microbiol* 2001;4:58-61.
 24. Kwon OG, Cho HM, Jang IH, Uh Y, Yoon KJ. Rapid de-tection of mycobacteria usin mycobacteria growth indicator tube (MGIT) and Ogawa media. *Korean J Clin Microbiol* 2000; 3:116-20. Korean.
 25. Chang CL, Park TS, Oh SH, Kim HH, Lee EY, Son HC, et al. Reduction of contamination of mycobacterial growth indicator tubes with a modified antimicrobial combination. *J Clin Microbiol* 2002;40:3845-7.
 26. Peres RL, Palaci M, Loureiro RB, Dietze R, Johnson JL, Maciel EL. Reduction of contamination of mycobacterial growth indicator tubes using increased PANTA concentration. *Int J Tuberc Lu ng Dis* 2011;15:281-3, i.
 27. American Proficiency Institute. Educational commentary. Detec-tion and identification of mycobacteria. Traverse City, MI: American Proficiency Institute; 2005.
 28. Ichiyama S, Iinuma Y, Yamori S, Hasegawa Y, Shimokata K, Nakashima N. Mycobacterium growth indicator tube testing in conjunction with the AccuProbe or the AMPLICOR-PCR assay for detecting and identifying mycobacteria from sputum samples. *J Clin Microbiol* 1997;35:2022-5.
 29. Kusunoki S, Ezaki T, Tamesada M, Hatanaka Y, Asano K, Hashimoto Y, et al. Application of colorimetric microdilution plate hybridization for rapid genetic identification of 22 Myco-bacterium species. *J Clin Microbiol* 1991;29:1596-603.
 30. Harboe M, Nagai S, Patarroyo ME, Torres ML, Ramirez C, Cruz N. Properties ofproteins MPB64, MPB70, and MPB80 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun* 1986;52:293-302.
 31. Wayne LG, Kubica. GP. The mycobacteria. In Sneath PHA, Mair NS, Sharp ME, Holt JG, editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1986. p. 1435-57.