

림프절 결핵에서 *rpoB* 유전자 염기서열 분석의 임상적 유용성

박지영¹ · 권기태²

경북대학교 의학전문대학원 병리학교실¹, 대구파티마병원 감염내과²

Clinical Usefulness of *rpoB* Gene Sequence Analysis in Lymph Node Tuberculosis

Background: Lymph node tuberculosis (LN-TB), the most common extra-pulmonary tuberculosis, frequently shows a paradoxical response (PR) during treatment. Differential diagnosis between PR and treatment failure in LN-TB is a challenging task because drug susceptibility test (DST) is rarely performed and can be delayed due to low culture yield and a long process. The *rpoB* gene mutation analysis is a rapid method for detection of rifampin resistance, however, its clinical usefulness has not yet been evaluated in LN-TB.

Materials and Methods: DNA extracts from LN with *Mycobacterium tuberculosis* polymerase chain reaction (MTB-PCR) positive were gathered and direct sequencing of *rpoB* gene was performed. A retrospective review of clinical and microbiologic data was performed. To evaluate the clinical usefulness of *rpoB* gene analysis in LN-TB, the change to a second line anti-tuberculosis regimen was used due to insufficient rifampin DST data.

Results: A total of 21 DNA extracts from 25 LN-TB patients were enrolled. Three *rpoB* mutations (Asp516Tyr, Ser522Leu, and Ser522Ala) were observed; the Asp516Tyr mutation showed rifampin resistance, however, the DST data were not available for the other two mutations. Compared with the change to the second line regimen, the sensitivity and specificity of *rpoB* gene mutation analysis were 50% and 94.4%, respectively, in 20 available cases. Compared with the change to the second line regimen, the sensitivity and specificity of the *rpoB* gene mutation analysis were 100% and 100%, respectively, in nine available cases with PR.

Conclusions: Despite development of PR, keeping the first line regimen in LN-TB cases without *rpoB* gene mutations may be recommended. Conduct of a prospective, well designed, further study with a larger scale is warranted.

Key Words: Tuberculosis, Lymph node, Rifampin, *rpoB*

서론

림프절 결핵은 폐외 결핵 중에서 가장 흔하며, 경부에 가장 호발하고, 림프절 생검에 의한 병리조직 검사와 미생물학적인 검사로 진단한다[1, 2]. 조직 검사에서 건락성 괴사를 동반한 만성 육아종과 같은 병리소견은 50-80%에서 관찰되고 항산균 도말

Ji-Young Park¹, and Ki Tae Kwon²

Department of Pathology¹, Kyungpook National University, School of Medicine; Division of Infectious Diseases², Daegu Fatima Hospital, Daegu, Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2012 by The Korean Society of Infectious Diseases | Korean Society for Chemotherapy

Submitted: February 1, 2012

Revised: September 3, 2012

Accepted: September 25, 2012

Correspondence to Ki Tae Kwon, M.D., Ph.D.

Division of Infectious Diseases, Daegu Fatima Hospital, 99

Ayangro, Dong-Gu, Daegu 701-010, Korea

Tel: +82-53-940-7923, Fax: +82-53-940-7924

E-mail: ktkwon@fatima.or.kr

양성률은 30-60%미만이며, 결핵균 핵산증폭 (PCR) 검사 양성률은 70-80%, 결핵균 배양 양성률은 20-80%이다[2].

림프절 결핵 진단에 배양검사는 아주 중요한 검사이며, 결핵균이 배양되면 약제 감수성 검사를 시행해야 한다. 림프절 결핵은 폐결핵과 달리 역설적 반응(paradoxical reaction)이 약 20-30% 정도에서 발생할 수 있고, 이 때 약제감수성검사는 역설적 반응과 내성 결핵에 의한 치료 실패를 감별하는데 중요하기 때문이다[3, 4]. 림프절 결핵은 배양 양성률이 낮고, 결핵균이 동정된다 하더라도 결핵 환자의 치료 시작부터 약제 감수성 결과를 확인하는데 까지 평균 2-3개월이 걸리므로[5], 역설적 반응이 발생할 경우에 결핵균이 배양되지 않았거나, 아직 약제 감수성 결과가 나오지 않았다면 내성 결핵에 의한 치료 실패를 감별할 수 없어 치료에 어려움이 있다. 이 경우 결핵균 PCR 검사가 양성이라면, 이 때 추출된 DNA의 염기서열을 분석하여 *rpoB* 유전자의 변이 여부를 관찰하면 신속하게 rifampin 내성을 확인할 수 있다[6]. 그러나 지금까지 림프절 결핵에서 *rpoB* 유전자 변이에 관한 연구는 거의 없어 임상적 유용성을 알기가 어렵다. 이에 저자들은 림프절 결핵에서 *rpoB* 유전자 분석의 임상적 유용성을 알아보고자 이 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 재료

2006년부터 2008년까지 경북대학교병원에서 시행한 림프절 세침 흡인 샘플에서 육아종의 소견이 있으면서 결핵균 PCR 양성인 DNA검체와 2009년 2월과 8월 사이에 대구 파티마병원에서 결핵균 PCR 양성으로 확인된 림프절의 DNA 검체를 대상으로 연구를 시행하였다. 임상적, 조직학적, 미생물학적 정보는 의무기록 조사를 통해 후향적으로 분석하였다.

2. 방법

1) 결핵균 DNA 추출 및 동정

경북대학교병원에서는 QiaAmp mini DNA Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) 를 사용하여 DNA를 추출하였고, Biosewoom MTB kit (Biosewoom, Seoul, Korea) 를 사용하여 결핵균 PCR을 시행하였다. 대구파티마병원에서는 ExiPrep Genomic DNA Kit (Bioneer, Daejeon, Korea) 를 사용하여 DNA를 추출하였고, AccuPower MTB Real-Time PCR Kit (Bioneer, Daejeon, Korea)를 사용하여 결핵균 PCR을 시행하였다.

2) 직접 염기서열 분석법(direct sequencing)을 통한 *rpoB* 유전자 변이 확인

PCR 산물은 2% agarose gel을 이용하여 확인한 다음 QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) 를 사용하여 정제하였다. 염기서열 분석은 forward와 reverse primer 를 이용하여, ABI Prism 3130XL (Applied Biosystems, CA, USA)과

Table 1. Oligonucleotide Primers Used in This Study

	Nucleotide sequence
Forward	cgtggaggcgcacacccgagcagcttg
Reverse	gacctccagcccgccagcgtcac
Product size (193bp)	<u>Cgtggaggcgcacacccgagcagctt</u> gatcaacatccggccggtgctgccgcgatcaaggagtcttcggcaccagccagctgagccaattcatggaccagaacaaccgctgctgggttgaccacaagccgactgtcggcgtggggcccgccggtctgtcagctgagcgtgccggctggaggtc

The underlined codons show frequently mutated codons (513, 516, 526, and 531) in the 81-bp hot-spot region of the *rpoB* gene.

BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, CA, USA)로 수행하여 81-bp hot-spot 구역을 포함하는 193개의 염기쌍을 얻었다(Table 1). 염기서열 분석 결과는 *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (GenBank accession No. L05910)를 기준으로 변이를 분석하였다.

3) 림프절 결핵에서 *rpoB* 유전자 염기서열 분석의 임상적 유용성 분석

림프절 결핵에서는 rifampin 내성 여부를 알 수 없는 경우가 많았기 때문에 *rpoB* 유전자 변이와 rifampin 내성을 비교 분석할 수는 없었다. 대신에 *rpoB* 유전자 변이 여부가 치료경과에 미치는 영향을 알아보았고, 이를 위하여 2차 항결핵제로 변경한 경우에 대한 *rpoB* 유전자 변이의 민감도, 특이도를 구했으며, 역설적 반응이 발생한 경우에도 2차 항결핵제로 변경한 경우에 대한 *rpoB* 유전자 변이의 민감도, 특이도를 구해보았다. Rifampin 내성이 확인되지 않은 림프절 결핵 환자에서 적어도 항결핵제를 10일 이상 투여한 이후에 기존의 결핵성 병변이 악화되거나 새로운 병변이 발생하는 경우를 역설적 반응이라고 정의하였다.

결과

총 25명의 림프절 결핵환자들에서 총 21개(84%)의 *rpoB* 유전자 염기서열을 얻었을 수 있었다. 나이의 중앙값은 32세(18-73)이었으며, 남녀의 비율은 7:18이었다(Table 2). 림프절의 크기와 개수의 평균 값은 각각 2.85 ± 1.48 cm와 2.93 ± 2.05 개이었다(Table 2). 항산성염색은 22명(88%)에서 시행되었고, 양성인 경우는 2명(9.1%)이었다. 결핵균 배양 검사는 9명(36%)에서 시행되었으며, 6명 (66.6%)에서 균이 동정되었고, 1명(16.7%)에서 rifampin내성이었다.

총 21개의 염기서열 중에서 3명(14.3%)의 환자에서 *rpoB* 유전자 변이를 발견하였는데, 각각 Asp516Tyr, Ser522Leu, Ser522Ala 이었다. Asp516Tyr에서 변이가 발견된 다제내성 결핵 환자는 1차 약제로 치료가 완료되었으며, 재발 소견도 없었다. 반면Ser522Ala 에서 변이를 보인 환자는 역설적 반응이 나타났으며, 1차 약제로 치료가 실패하여 2차 약제로 변경하였다. Ser522Leu 에서 변이를 보인 환자는 임상경과를 알 수 없었다.

임상경과를 알 수 있었던 22명의 환자 중에서, 1차 약제로 치료를 완료한 경우는 21명(90.9%)이었고, 2차 약제로 변경한 경우는 2명(9.1%)

Table 2. Characteristics of 25 Patients with Lymph Node Tuberculosis

Variables	Values
Median age (range)	32 (18-73)
No. of Male:Female	7:18
LN size (cm, Mean±SD)	2.85±1.48
LN Number (Mean±SD)	2.93±2.05
Clinical course	
Completion with 1 st line regimen (%)	20/22 (90.9)
Change to the 2 nd line regimen (%)	2/22 (9.1)
Total treatment Duration (Months, Median, Range)	9 (6-29)
Cure rate (%)	22/22 (100)
Paradoxical response (%)	11/22 (50)
Size increase (%)	7/11 (63.6)
Development of new lesions (%)	4/11 (36.3)
Clinical course	
Completion with 1 st line regimen (%)	10/11 (90.9)
Change to the 2 nd line regimen (%)	1/11 (9.1)
Steroid treatment (%)	5/11 (45.5)
Surgical treatment (%)	4/11 (36.3)

Values indicate number/available cases (%).

LN, lymph node

Table 3. Sensitivity and Specificity of *rpoB* Gene Mutation Analysis for Change to Second Line Regimen

	Number of positive results / Number of specimens tested			
	Change to 2 nd line regimen			
	Lymph node tuberculosis		Cases with paradoxical response	
	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)
<i>rpoB</i> mutation	1/2 (50%)	17/18 (94.4%)	1/1 (100%)	8/8 (100%)

이였으며, 치료 기간의 중앙값은 9개월(6-29)이었고 모든 환자에서 완치되었다(Table 2). 총 20명의 환자에서 *rpoB* 유전자 분석 결과와 임상경과에 대한 자료를 모두 확보할 수 있었으며, 2차 약제로 변경한 2명 중에서 *rpoB* 유전자 변이가 1명(50%)에서 관찰되었고, 1차 약제로 치료를 완료한 18명 중에서 *rpoB* 유전자 변이가 없는 경우가 17명(94.4%)이었으므로, 2차 약제로 변경한 경우에 대한 *rpoB* 유전자 변이의 민감도와 특이도는 각각 50%와 94.4%이었다(Table 3).

총 11명에서 역설적 반응이 나타났으며, 크기가 증가된 경우가 7명(63.6%), 새로운 병변이 발생된 경우는 4명(36.3%)이었다(Table 2). 결핵균 배양 검사가 시행된 4명에서 Rifampin 내성은 관찰되지 않았고, *rpoB* 유전자 변이는 1예(Ser522Ala)에서 관찰되었다. 1차 약제로 치료를 완료한 경우, 2차 약제로 변경한 경우, steroid를 투여한 경우, 수술적 치료를 시행한 경우가 각각 10명(90.9%), 1명(9.1%), 5명(45.5%), 4명(36.3%)이었다(Table 2). 유전자 염기서열과 임상경과에 대한 자료를 모두 확보할 수 있었던 경우는 9명이었는데, 2차 약제로 변경한 1명에서 *rpoB* 유전자 변이가 관찰되었고, 1차 약제로 치료를 완료한 8명 중에서 *rpoB* 유전자 변이가 없는 경우가 8명(100%)이었으므로, 역설적 반응이 나타난 환자에서 2차 약제로 변경한 경우에 대한 *rpoB* 유전자 변이의 민감도와 특이도는 각각 100%와 100%이었다(Table 3).

고찰

Rifampin 내성은 *rpoB* 유전자의 81개 염기쌍의 hot-spot 부위(Table 1)의 유전자변이에 의해서 대부분 발생하며, 이러한 변이의 유형과 빈도는 나라마다 다양하게 나타난다[7-9]. 우리나라에서는 Ser531Leu이 가장 흔한 변이이고, His526Tyr, His526Asn, Gln513Leu, Gln513Pro, Asp516Tyr, Leu533Pro 등의 순으로 흔하게 나타난다[10]. 본 연구에서는 Asp516Tyr, Ser522Leu, Ser522Ala의 3가지 변이가 결핵성 림프절염 환자에서 관찰되었다. 모두 hot spot 구역에 포함되어 있기는 하였으나, Asp516Tyr을 제외한 2가지 경우는 흔하게 관찰되는 변이는 아니었다.

Rifampin 내성 결핵을 신속하게 확인하는 분자생물학적인 방법은 reverse membrane hybridization, line probe assay, DNA microarrays, PCR-single nucleotide conformation polymorphism (SSCP) 등의 여러 가지가 있으나, 유전자 변이를 확인하는 가장 정확한 방법은 직접 염기서열을 분석하여 확인하는 것이다[7, 11-14]. 국내에서 결핵균과 호흡기검체에서 직접 유전자 염기서열 분석법을 고전적인 약제내성 검사법과 비교할 때 높은 민감도와 특이도를 나타내어 항결핵제 내성을 예측하는데 정확한 방법임이 입증되었으나, 아직까지 임상적으로 분자생물학적인 방법이 고전적인 약제내성 검사법을 대체할 수는 없다[10]. 본 연구에서는 비록 검사방법이 복잡하여 임상적으로 사용하기에는 어려움이 있으나, 정확한 결과를 얻기 위하여 직접 염기서열을 분석하는 방법을 사용하였다. 또한, 결핵성 림프절염과 같은 폐외결핵에서는 균주 배양률이 낮기 때문에 균주를 이용한 분자생물학적인 방법은 현실성이 떨어져, 결핵균 PCR양성 림프절 검체에서 추출된 결핵균의 DNA를 이용하였다. PCR-SSCP를 이용하여 결핵성 림프절염에서 *rpoB* 유전자 변이를 살펴본 2002년에 시행된 연구에 따르면 *rpoB* 유전자 변이가 31.8%로 있다고 하였으나, 일반적으로 알려져 있는 2-3% 정도의 rifampin 내성율보다 너무 높게 관찰되었고, 약제내성 검사의 rifampin내성율과 비교되지 않았으며, 역설적 반응, 내성에 의한 치료실패 등 임상 양상에 대한 분석은 시행되지 않았다[6].

본 연구에서 총 25명의 림프절 결핵 환자에게서 21개(84%)의 분석 가능한 *rpoB* 유전자 염기 서열을 얻을 수 있었다. DNA를 추출 후 보관하고 이송하는 과정에서 DNA가 손상되거나 오염되었기 때문에 84%만 염기서열을 얻을 수 있었을 것으로 추정된다. 또한 항산성 양성 검체가 9.1% 밖에 되지 않아 민감도가 낮을 수 있으며, 이는 호흡기 검체를 이용한 연구에서도 나타나는 현상이다[15]. 동정된 균주가 아닌 임상 검체에서 결핵균 PCR 양성 DNA 추출물을 이용하여 검사하는 경우에는 장기간 보관하거나 다른 기관으로 이송하기 보다는 추출된 DNA를 가지고 즉시 *rpoB* 유전자 염기서열을 분석하는 것이 좋겠다.

림프절 결핵에서 결핵균 배양은 매우 중요한 것으로 추천되지만, 본 연구에서 나타나듯이 림프절 조직 배양이 시행되는 경우는 36%로 매우 낮았으며, 여기에서 다시 2/3만이 결핵균이 동정되었다[2]. 림프절 결핵에서 조직검사를 시행할 때 반드시 결핵균 배양을 의뢰하도록 독려하여야 하겠다. 본 연구에서는 *rpoB* 유전자 변이의 임상적 유용성

을 분석하기 위해 결핵균 감수성 결과 대신에 2차 약제로의 변경 여부를 비교 변수로 이용하여 민감도와 특이도를 구하였다. 2차 약제 변경 여부를 사용하여 분석하면 *rpoB* 유전자 변이의 진단적 가치는 평가할 수 없으나 임상적 유용성은 평가할 수 있다. 전체 림프절 결핵에 대해서는 민감도와 특이도는 각각 50%, 94.4%이었고, 역설적 반응이 나타난 경우에는 민감도와 특이도는 모두 100%이었다. 우리나라에서 rifampin 단독 내성은 매우 드물며, rifampin 내성이 있는 경우 상당 부분 다제내성이거나 다른 일차 약제에 동시내성을 가지고 있는 경우가 많기 때문에 rifampin 내성을 나타내는 *rpoB* 유전자 변이가 있으면, 1차 약제 치료 실패를 의미하는 2차 약제로 변경한 경우가 많을 것으로 추정하였다[16, 17]. 그러나, 국내에는 Rifampin 내성의 유병율이 낮고, 항상성 양성 검체가 적어 민감도가 낮았으며, 민감도의 계산에 이용된 검체의 수도 2개 이하로 너무 적어 민감도에는 의미를 부여하기 어려웠다. 하지만 특이도는 매우 높았으며, *rpoB* 유전자 변이가 없다면, 일차약제의 치료에 성공할 확률이 높다는 것을 의미한다. 역설적 반응은 결핵을 치료하는 동안 일시적인 증상악화를 보이는 것으로 rifampin 내성에 의한 치료 실패와 임상적 양상은 유사하여 구분하기가 쉽지 않다. 본 연구에 의하면 역설적 반응이 나타난 림프절 결핵 환자에서 결핵균 PCR이 양성이고 이 검체에서 DNA를 추출하여 *rpoB* 유전자 변이가 없다는 것이 확인되면 1차 약제를 지속하는 것을 추천할 수 있겠다.

본 연구의 제한점은 검체와 증례의 수가 적고, 임상적, 미생물학적, 조직학적 데이터는 후향적으로 분석한 점이다. 자료의 결측치가 많아 지표들이 심하게 편향되었다. 또한, 결핵균 PCR 양성의 경우만을 대상으로 함으로써 증상이 심한 경우가 선택적으로 포함될 수 있어 선택 편향이 적용된다고 할 수 있다.

결론적으로, 위와 같은 제한점에도 불구하고 본 연구는 결핵성 림프절염에서 배양된 균주가 아니라 결핵균 PCR 양성 검체에서 추출된 DNA로 *rpoB* 유전자 분석을 시행하여, 결핵균이 배양되지 않았을 경우에도 *rpoB* 유전자 변이 여부가 없다는 것이 확인되면, 1차 약제를 지속할 수 있다는 것을 보여준 최초의 연구이다. 이 연구는 향후 충분한 사례를 포함하는 잘 고안된 전향적인 연구에 바탕이 된다.

감사의 글

본 연구는 2008년 추계대한감염학회 학술연구비의 지원을 받아 시행한 연구입니다. 검체 획득과 분자유전학 분석을 수행하는데 많은 도움을 주신 대구파티마병원 진단검사의학과 송도영 과장님과 경북대학 교병원 병리와 김재훈 선생님께 감사드립니다.

References

- Peto HM, Pratt RH, Harrington TA, LoBue PA, Armstrong LR. Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis in the United States, 1993-2006. *Clin Infect Dis* 2009;49:1350-7.
- Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korean Guidelines for Tuberculosis. 1st ed. 2011.
- Hawkey CR, Yap T, Pereira J, Moore DA, Davidson RN, Pasvol G, Kon OM, Wall RA, Wilkinson RJ. Characterization and management of paradoxical upgrading reactions in HIV-uninfected patients with lymph node tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2005;40:1368-71.
- Cho OH, Park KH, Kim T, Song EH, Jang EY, Lee EJ, Chong YP, Choi SH, Lee SO, Woo JH, Kim YS, Kim SH. Paradoxical responses in non-HIV-infected patients with peripheral lymph node tuberculosis. *J Infect* 2009;59:56-61.
- Joh JS, Lee CH, Lee JE, Park YK, Bai GH, Kim EC, Han SK, Shim YS, Yim JJ. The interval between initiation of anti-tuberculosis treatment in patients with culture-positive pulmonary tuberculosis and receipt of drug-susceptibility test results. *J Korean Med Sci* 2007;22:26-9.
- Gong G, Lee H, Kang GH, Shim YH, Huh J, Khang SK. Nested PCR for diagnosis of tuberculous lymphadenitis and PCR-SSCP for identification of rifampicin resistance in fine-needle aspirates. *Diagn Cytopathol* 2002;26:228-31.
- Bártfai Z, Somoskövi A, Ködmön C, Szabó N, Puskás E, Kosztolányi L, Faragó E, Mester J, Parsons LM, Salfinger M. Molecular characterization of rifampin-resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from Hungary by DNA sequencing and the line probe assay. *J Clin Microbiol* 2001;39:3736-9.
- Musser JM, Kapur V, Williams DL, Kreiswirth BN, van Soolingen D, van Embden JD. Characterization of the catalase-peroxidase gene (*katG*) and *inhA* locus in isoniazid-resistant and -susceptible strains of *Mycobacterium tuberculosis* by automated DNA sequencing: restricted array of mutations associated with drug resistance. *J Infect Dis* 1996;173:196-202.
- Telenti A, Imboden P, Marchesi F, Lowrie D, Cole S, Colston MJ, Matter L, Schopfer K, Bodmer T. Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Lancet* 1993;341:647-50.
- Cho EH, Bae HK, Kang SK, Lee EH. Detection of isoniazid and rifampin resistance by sequencing of *katG*, *inhA*, and *rpoB* genes in Korea. *Korean J Lab Med* 2009;29:455-60.
- Cooksey RC, Morlock GP, Glickman S, Crawford JT. Evaluation of a line probe assay kit for characterization of *rpoB* mutations in rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from New York City. *J Clin Microbiol* 1997;35:1281-3.
- Hillemann D, Rusch-Gerdes S, Richter E. Evaluation of the GenoType MTBDRplus assay for rifampin and isoniazid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2007;45:2635-40.
- Lee H, Cho SN, Bang HE, Lee JH, Bae GH, Kim SJ, Kim JD. Molecular analysis of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolated from Korea by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism sequence

- analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:585-9.
14. Park H, Song EJ, Song ES, Lee EY, Kim CM, Jeong SH, Shin JH, Jeong J, Kim S, Park YK, Bai GH, Chang CL. Comparison of a conventional antimicrobial susceptibility assay to an oligonucleotide chip system for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Clin Microbiol* 2006;44:1619-24.
 15. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, Allen J, Tahirli R, Blakemore R, Rustomjee R, Milovic A, Jones M, O'Brien SM, Persing DH, Ruesch-Gerdes S, Gotuzzo E, Rodrigues C, Alland D, Perkins MD. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med* 2010;363:1005-15.
 16. Bai GH, Park YK, Choi YW, Bai JI, Kim HJ, Chang CL, Lee JK, Kim SJ. Trend of anti-tuberculosis drug resistance in Korea, 1994-2004. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11:571-6.
 17. Cho OH, Park KH, Park SY, Moon SM, Chong YP, Kim MN, Lee SO, Choi SH, Woo JH, Kim YS, Kim SH. Drug-resistant extrapulmonary tuberculosis. *Infect Chemother* 2011;43:258-61.