

The Laboratory Diagnosis of Melioidosis in a Korean Patient

Yong-Woo Shin¹, Min-Hee Cho¹, Jeong-Hoon Chun¹, Changmu Kim²,
Hee-Bok Oh¹, Gi-Eun Rhie¹ and Cheon-Kwon Yoo^{1*}

¹Division of High-risk Pathogen Research, Center for Infectious Diseases, National Institute of Health,
Osong Health Technology Administration Complex, Cheongwon, Korea

²Division of Non-Vascular Plants, National Institute of Biological Resources, Korea Environmental
Research Complex, Incheon, Korea

Burkholderia pseudomallei is a gram-negative opportunistic intracellular pathogen that causes an acute and fatal septicemic melioidosis in humans. The organism is mainly found in Southeastern Asia and Northern Australia. Recently, we encountered a case of melioidosis in a Korean patient and performed the laboratory diagnosis of melioidosis. As a result, a gram negative bacterium was isolated from a melioidosis patient, and it was identified as *B. pseudomallei* on DNA sequencing of 16S ribosomal RNA with 99.9% homology and biochemical examination of VITEK gram-negative identification card. Also, DNA from cultured bacteria was tested in multiplex PCR, a 245 bp fragment amplified from the metalloprotease gene and a fragment of variable size ranging from 400~700 bp resulting from amplification of the 10 bp repetitive element for *B. pseudomallei* were confirmed after electrophoresis. The bacterium was sensitive to ceftazidime, imipenem and meropenem but resistant to ticarcillin. So far, there are no domestic cases of melioidosis in Korea, however, due to the increase in international travelers, the incidence of melioidosis is likely to increase. We report a recent case of melioidosis in a Korean patient.

Key Words: *Burkholderia pseudomallei*, Melioidosis, Diagnosis, VITEK, Multiplex PCR

서 론

Melioidosis는 그람 음성 세균인 *Burkholderia pseudomallei*에 의해 발생하는 세균성 전염병으로 열대성 기후, 특히 풍토병이 있는 동남아시아에서 두드러지게 나타나며, 태국, 말레이시아, 싱가포르와 북호주 등에서 주로 발생하는 것으로 보고되고 있다 (1). *B. pseudomallei*는 주로 흙과 물에 의해 전파되며, 당뇨병과 같은 만성질환

환자에게 감염을 일으키는 것으로 알려져 있다 (2). 이 균에 감염된 환자들은 폐, 간, 비장(spleen), 신장 등에서 균혈증을 동반한 패혈증이 나타나는 경우가 많다. 우리나라는 melioidosis에 대한 비 유행국가이지만 최근 해외 여행 및 각종 인구 이동의 증가로 해외 유입 melioidosis 감염사례가 꾸준히 늘고 있다. 지금까지 국내에서 발생한 melioidosis 환자는 6명으로 모두 해외 유입사례이며, 이중 내국인은 5명, 외국인은 1명이다 (3~6). 이러한 국내 유입사례를 볼 때, 정확한 진단 뿐만 아니라, *B. pseudomallei*의 국내 유입 가능성에 대비하기 위해서는 신속하고 정확한 진단법 확립이 필요하다.

Melioidosis는 감염자의 혈액, 소변, 객담, 피부 병변 또는 고름으로부터 *B. pseudomallei*를 직접 분리하여 진단한다. 실험실적 진단 과정은 혈액 등의 검체를 혈액배지와 MacConkey agar에 직접 배양하여 *B. pseudomallei*의 형태학적 특성을 관찰하며, *B. pseudomallei*에 선택배지로 알

Received: November 24, 2010/ Revised: December 24, 2010

Accepted: December 29, 2010

*Corresponding author: Cheon-Kwon Yoo, Division of High-risk Pathogen Research, Center for Infectious Diseases, National Institute of Health, Osong Health Technology Administration Complex, Cheongwon-gun, Chungcheongbuk-do, 363-951, Korea.
Phone: +82-43-419-8270, Fax: +82-43-419-8309
e-mail: ckyoo@nih.go.kr

**This work was supported by a Korean National Institute of Health Grant (2008-N00376-00 for C. Y).

려진 Ashdown's medium을 이용하여 균 배양을 실시한다. 배양된 균을 VITEK system을 이용하여 생화학적으로 동정하고, 그밖에 16S ribosomal RNA 염기서열 분석 및 PCR 등을 수행하여 최종 확인 진단한다 (7).

특히, *B. pseudomallei*는 Glanders라는 병을 일으키는 *B. mallei* 및 *B. thailandensis*와 유전학적으로 상당히 유사하여 이들을 감별 진단할 수 있는 유전학적 진단이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 *B. pseudomallei*와 *B. mallei*, *B. thailandensis*를 감별 진단할 수 있는 multiplex PCR법을 이용하여 국내 melioidosis 환자에서 분리된 균을 감별 진단하고 VITEK-2 system을 이용하여 항생제 내성 양상을 분석하였다.

따라서 본 연구에서는 해외 감염되어 국내에서 발생한 melioidosis 환자에 대한 실험실적 진단을 균 분리와 유전학적 검사를 통해 실시한 바, 이를 보고하고자 하며, 이와 같은 경험을 통해 국내 melioidosis 환자 발생 시, 신속하고 정확한 실험실적 진단법을 확립하는데 기여하고자 하였다.

재료 및 방법

검체 및 균주

2010년 6월, 48세 남자가 동남아 출장 후 발열과 두통, 객담을 동반한 기침으로 OO병원에 내원하여 치료 중 melioidosis가 의심되어 혈액, 객담과 함께 분리된 의심 균을 질병관리본부에 검사 의뢰하였다. 실험에 사용된 표준 균주로는 국가병원체자원은행에서 분양 받은 *B. pseudomallei* NCCP 14417, *B. mallei* NCCP 10195, *B. thailandensis* NCCP12385, *B. cepacia* NCCP 11153, *Pseudomonas aeruginosa* NCCP 10250, *Escherichia coli* NCCP 10948을 사용하였다.

배양 및 특성 분석

배양배지는 Brain Heart Infusion (BHI) agar와 MacConkey agar를 사용하였고, 선택배지로는 Ashdown's medium (trypticase soy agar, 4% glycerol, 5 mg/l crystal violet, 50 mg/l neutral red, 4 mg/l gentamycin)을 제조하여 사용하였으며, 37℃에서 24시간 내지 48시간 배양하였다 (8). 환자의 검체에서 분리된 균주는 VITEK GNI card (bioMérieux Vitek, Hazelwood, MO, USA)를 이용하여 동정하였으며, API 20 NE kit를 이용한 생화학적 검사와 Wayson 염색법에

따른 양극단 모양의 형태학적 동정시험 등을 이용하여 동정하였다.

16S rRNA 염기서열 및 계통도 분석

분리 균주로부터 genomic DNA를 분리하여 PCR 과정에서 주형으로 사용하였으며, 16S rRNA 유전자를 증폭하기 위하여 universal primer를 사용하였다. Forward primer의 염기서열은 5'-CCAGCAGCCGCGGTAATACG-3'이며, reverse primer의 염기서열은 5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3'로 제작하여 사용하였다. PCR 반응조건은 증폭 cycle은 총35회 실시하였으며, pre-denaturation은 94℃에서 5분, cycle당 denaturation은 94℃에서 45초, annealing은 55℃에서 60초, extension은 72℃에서 60초 동안 실시하였으며, final extension은 72℃에서 7분 동안 실시하였다. 16S rRNA 유전자의 PCR 산물에 대한 염기서열 분석 후, 이를 GenBank® database와 비교 분석하여 Neighbor-joining method법으로 계통도 분석을 수행하였다.

Multiplex PCR

배양된 *B. pseudomallei*로부터 genomic DNA는 i-genomic CTB DNA mini kit (Intron, Seoul, Korea)를 사용하여 제조사의 방법에 따라 분리하였다. Multiplex PCR에 사용된 primer는 *B. pseudomallei*와 *B. thailandensis*에 공통적으로 존재하는 402 bp 크기의 유전자를 증폭하기 위한 SR1과 SR5 primer와 *B. thailandensis*에만 특이적으로 존재하는 308 bp 크기의 유전자를 증폭하기 위한 SRT3 primer, 그리고 *B. pseudomallei*와 *B. thailandensis*에 공통적으로 존재하고 *B. mallei*에는 존재하지 않는 serine metalloprotease 유전자인 MprA를 증폭하기 위한 14F5와 14R5 primer를 사용하였으며, 염기서열은 다음 Table 1과 같다 (9). Multiplex PCR을 위한 PCR mixture는 5가지의 primer 조합(SR1, SR5, SRT3, 14F5, 14R5)으로 각각 10 pmol, 10 × PCR 완충용액 10 µl, 2.5 mM dNTP 4 µl, 0.5 mM의 MgCl₂ 2 µl, 1.25 U의 Taq polymerase (Roche Diagnostics, Tucson, AZ, USA)와 각각의 균으로부터 추출한 0.1 µg의 genomic DNA로 구성되어 있으며, 이를 총 50 µl의 reaction volume 이 되도록 하였다. PCR 반응조건은 증폭 cycle은 총30회 실시하였으며, pre-denaturation은 94℃에서 5분, cycle당 denaturation은 94℃에서 30초, annealing은 58℃에서 30초, extension은 72℃에서 1분 동안 실시하였으며, 최종적으로 final extension은 72℃에서 7분 동안 실시하였다. PCR

Table 1. Primers used for multiplex PCR

Primer	Sequences	Detected bacteria and size
SR1	5'-ACCGCGTATGAAGGGATGTC-3'	<i>B. thailandensis</i>
SRT3	5'-AAAGCTGCGCGCTCGGCATC-3'	- 308 bp
SR5	5'-ACGCGCACGCACCTGCTGAAC-3'	- 402 bp
14F5	5'-ACCTGCTGCCGGGCTACGACTTCA-3'	<i>B. pseudomallei</i> , <i>B. thailandensis</i>
14R5	5'-CACCTTGCCGACCCACGTAGATGC-3'	- 245 bp

**Figure 1.** Colonial growth morphology of *Burkholderia pseudomallei*. (A) Colonies on BHI agar after 48 h culture; (B) Colonies on MacConkey agar after 48 h culture; (C) Colonies on Ashdown's medium after 48 h culture.

증폭에 의해 생성된 PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 $1 \times$ TAE에서 100 V 30분 동안 전기영동한 후, ethidium bromide로 염색하였다.

항생제 감수성 검사

분리 균주에 대한 항생제 감수성 검사는 VITEK-2 System (bioMérieux)의 AST-N132 card를 이용하여 minimum inhibitory concentration (MIC)를 측정하였다. *B. pseudomallei* 균주를 BHI에서 37°C에서 48시간 동안 배양 후 VITEK-2 system을 시행하기 위해 균 집락을 0.45% 식염수에 균을 3 ml 풀어 잘 섞은 후 0.6 McFarland 탁도(bioMérieux DensiCheck Instrument)로 맞춘 시험관(균 접종액)을 준비하였다. 시험관을 카세트에 꽂은 후 AST-N132 카드를 카세트에 장착시켜 VITEK-2 장비에 넣어 항생제 감수성 검사를 시행하였다.

결 과

균 배양을 통한 *B. pseudomallei*의 동정

Melioidosis 의심환자의 혈액과 객담을 확보하여 BHI 배지와 MacConkey agar에 직접 도말하여 배양한 결과,

24시간 후에 작고 매끈한 집락이 나타났으며(Fig. 1A 및 B), 선택배지인 Ashdown's medium에서는 48시간 후에 *B. pseudomallei*로 보이는 집락을 확인할 수 있었다(Fig. 1C). 혈액과 객담으로부터 분리된 균주 2건과 의뢰된 의심균에 대해 VITEK system과 API 20NE kit를 사용하여 생화학적 동정실험을 실시한 결과, 모두 *B. pseudomallei*로 확인되었다. 특히 *B. pseudomallei*를 Wayson 염색법에 따라, 염색했을 때 실제로 양 끝부분이 길고, 중앙부가 물 빠진 것처럼 넓게 염색되어 안전 핀 모양의 형태학적 특성을 나타내었다(data not shown).

16S rRNA 염기서열 및 계통 분석

분리된 3균주에 대한 16S rRNA 유전자의 염기서열 분석 결과, 3균주 모두 동일하였으며 이를 GenBank® database에 등록된 *B. pseudomallei* (GenBank® Accession NO. CP000572)의 16S rRNA 염기서열과 비교한 결과, 99.9% 일치하여 *B. pseudomallei*임을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 또한 GenBank®에 등록된 burkholderia 군속의 8종류 16S rRNA와 함께 계통도를 분석한 결과, *B. thailandensis*와는 99%, *B. mallei*와는 66%의 연관성을 보여, *B. pseudoamillei*가 *B. thailandensis*와 유전학적으로 상당히 유사한 것을

Figure 2. Comparison of the 16S rRNA sequences from *B. pseudomallei* (GenBank accession no. CP000572) and *B. pseudomallei* isolated from a melioidosis patient. Bold letters show the positions of the 3 nucleotide dissimilarities between *B. pseudomallei* and *B. pseudomallei* isolated from a melioidosis patient.

배양된 균체 및 혈액으로부터 직접 genomic DNA를 추출하여 multiplex PCR을 수행한 결과, *B. pseudomallei*에 특이적인 245 bp의 밴드와 *B. pseudomallei* 균주마다 특이적인 반복서열의 유전자(약 400 bp)의 2가지 밴드가 확인되었다(Fig. 4). *B. pseudomallei*와 유전학적으로 유사하면서도 비병원성 균주인 *B. thailandensis*의 경우에

는 *B. pseudomallei*와 *B. thailandensis*에는 공동으로 존재하고 *B. mallei*에는 존재하지 않는 245 bp의 밴드와 *B. thailandensis* 모든 균주에만 공통적으로 존재하는 402 bp 크기의 유전자 그리고 *B. thailandensis*에만 특이적으로 존재하는 308 bp 크기의 유전자를 확인할 수 있었다. 음성 대조군으로 사용한 *P. aurogenosa*와 *B. cepacia*, *E. coli* 등의 multiplex PCR 결과에서는 어떠한 밴드도 확인되지 않았다.

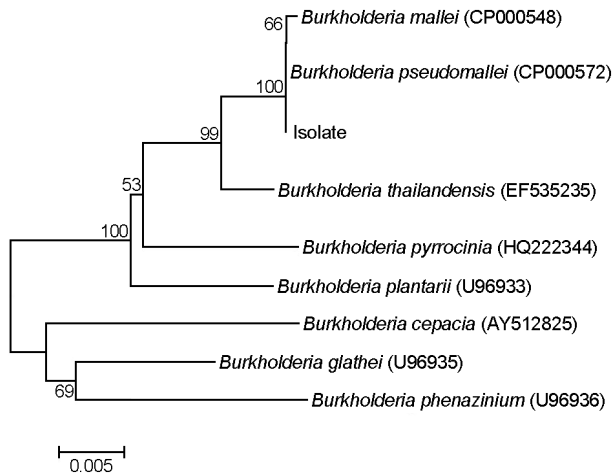


Figure 3. The phylogenetic tree based on the 16S rRNA gene sequences for *B. pseudomallei* isolate and other *Burkholderia*. The phylogenetic tree was generated using Neighbor-joining method based on DNA sequence of partial 16S rDNA gene. Bootstrap values of above 50% from a sample of 1,000 replicate are shown on each branch.

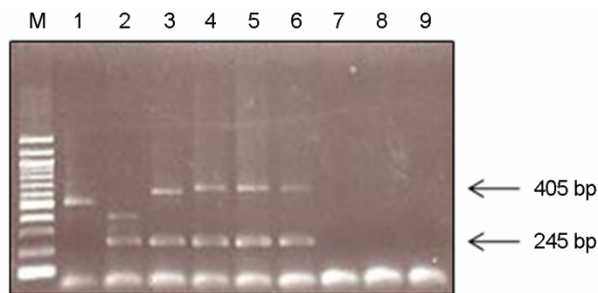


Figure 4. Multiplex PCR analysis of *B. mallei*, *B. thailandensis* and *B. pseudomallei* isolates. Lane 1. *B. mallei*; lane 2. *B. thailandensis*; lane 3. *B. pseudomallei*; lane 4. Genomic DNA isolated directly from blood; lane 5. *B. pseudomallei* cultured from blood; lane 6. *B. pseudomallei* cultured from sputum; lane 7. *B. cepacia*; lane 8. *P. aeruginosa*; lane 9. *E. coli*.

항생제 감수성 검사 결과

분리된 *B. pseudomallei*에 대한 VITEK-2의 판독 결과, 감수성 범주에 포함되는 항생제 종류가 11가지였으며, 내성 범주에 포함되는 항생제는 1가지, 중간 내성(intermediate)의 범주에 포함되는 항생제 종류는 4가지가 속하는 것을 확인할 수 있었다(Table 2). 일반적으로 melioidosis의 치료효과가 높은 것으로 알려져 있는 ceftazidime (MIC breakpoint, 4 µg/ml)의 경우엔 MIC값이 1 µg/ml로 감수성 범주에 포함되었으며, imipenem, meropenem 등의 MIC값 역시, 1 µg/ml로 감수성 범주에

Table 2. Antimicrobial susceptibility patterns of *B. pseudomallei*

Antimicrobial agents	Breakpoint for resistance	MIC (µg/ml)	Resistance
Ticarcillin	>64 ^b	≥128	R
Ticarcillin/clavulanate	≤16/2 ^b	≤8	S
Ampicillin/sulbactam	ND	4	ND
Piperacillin	≤16 ^b	≤4	S
Penicillin/tazobactam	≤16/4 ^b	≤4	S
Cefotaxime	ND	8	ND
Ceftazidime	≤4 ^b	≤1	S
Cefepime	>8 ^b	8	I
Aztreonam	>16 ^a	16	I
Imipenem	≤2 ^b	≤1	S
Meropenem	≤2 ^b	1	S
Amikacin	≤8 ^b	≤2	S
Gentamicin	≤4 ^b	≤1	S
Tobramycin	≤4 ^b	≤1	S
Ciprofloxacin	≤1 ^b	1	I
Levofloxacin	≤1 ^b	1	I
Minocycline	≤4 ^a	≤1	S
Trimethoprim/sulfamethoxazole	≤4/76 ^b	≤20	S

^aBreakpoints defined in the general recommendations of the 'Comite' de l'Antibiogramme de la Societe' Française de Microbiologie' (CASFM).

^bBreakpoints defined for *B. cepacia* by the CASFM.

R, Resistant; I, Intermediate; S, Susceptible; ND, no interpretative criteria.

포함되었다. 그 밖에도 ticarcillin/clavulanate, piperacillin, penicillin/tazobactam, minocycline, trimethoprim/sulfamethoxazole, gentamicin, tobramycin, amikacin에 대해서도 감수성을 나타내었다. 그러나, ticarcillin (MIC breakpoint, 64 µg/ml)의 경우엔 128 µg/ml의 MIC값을 나타내어 내성을 나타내었고, aztreonam의 경우는 16 µg/ml의 MIC값과 levofloxacin은 2 µg/ml의 MIC값을 나타내어 중간 범주의 내성을 나타내었다.

고 찰

Melioidosis는 주로 동남아시아나 호주북부 등의 열대지방에서 발생하는 풍토병으로서, 당뇨병, 만성신질환, 만성 폐질환 등 기저질환이나 약물로 인한 면역저하와 관련

하여 발병한다고 알려져 있다 (2). 이 질병은 사망률이 매우 높은 질환으로 현재까지 백신이 없으며, ceftazidime 혹은 carbapenem계 항생제가 가장 효과적인 치료제로 사용되고 있으나, 조기의 항생제 치료가 질병의 예후에 중요한 것으로 보고되고 있다 (10). 국내 melioidosis 발생 사례 중에서도 말레이시아에 거주하던 환자가 증상 발생 2주 후에 귀국하여 입원 치료를 시작함으로써, 조기 치료 시기를 놓쳐 사망한 경우가 보고된 바 있다 (10). 그러나, 조기 치료를 위해서는 무엇보다도 melioidosis에 대한 신속하고 정확한 진단이 필요하며, 이에 본 연구에서는 최근 국내에서 경험하기 어려운 melioidosis 환자로부터 *B. pseudomallei*를 직접 분리하여 VITEK system을 이용한 동정시험과 multiplex PCR 등의 유전학적 진단 등을 수행하였고, 이는 실험실적 진단의 중요한 경험이 될 것으로 생각된다.

*B. pseudomallei*는 혈액배지나 일반 증균배지 등에서 배양이 잘 되는 것으로 알려져 있는데, 실제로 melioidosis 의심환자의 혈액 및 객담으로부터 배양된 균은 BHI와 같은 증균배지 뿐 아니라, *B. pseudomallei*의 선택배지로 알려진 Ashdown's medium에서 집락을 형성하였고, 배양 시에 특유한 흙냄새가 나는 특징을 나타내었다(Fig. 1). 또한, 분리된 균에 대한 16S rRNA 염기서열과 NCBI에 등록된 다른 여러 종류의 burkholderia 종들의 16S rRNA 염기서열을 비교하여 계통도를 분석한 결과에서 *B. pseudomallei*가 비병원성 균주인 *B. thailandensis*와 계통학적으로 상당히 유사한 관계임을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 따라서, *B. pseudomallei*의 진단과정에서는 *B. mallei* 및 *B. thailandensis* 등의 유사한 균과의 감별 진단이 요구되었으며, 이에 이들 세가지 균의 감별 진단이 가능하도록 primer를 제작하여 multiplex PCR을 수행하였다. 그 결과, *B. pseudomallei*에 특이적인 2개의 밴드를 확인하였고, *P. aurogenosa*와 *B. cepacia*, *E. coli* 등에서는 교차반응이 없는 것을 확인하여 *B. pseudomallei*임을 확인할 수 있었다(Fig. 3). *B. pseudomallei*와 *B. mallei*는 미국 질병통제센터(Centers for Disease Control and Prevention, USA)에 의해 생물테러에 사용이 가능한 병원체인 Category B로 지정된 바 있고, 국내에서도 2005년 전염병예방법 개정을 통해 32종의 '고위험병원체' 중 하나로 지정, 고시하여 보존, 관리에 대하여 국가 관리를 강화하도록 하고 있다 (11). 따라서, 이와 같은 multiplex PCR법은 melioidosis에 대한 확인 진단뿐만 아니라, 테러에 이용될 수 있는

고위험병원체에 대한 빠르고 정확한 진단법으로도 활용되고 있다.

Melioidosis를 일으키는 *B. pseudomallei*는 짧게는 2일에서 길게는 수년까지 잠복기가 있는 것으로 알려져 있으며, 급성 패혈증에서 만성 국소 감염에 이르기까지 다양한 발병 양상을 보인다 (11). *B. pseudomallei*는 cephalosporins 혹은 carbapenem계 항생제가 가장 효과적인 치료제로 알려져 있으며, 일반적으로 melioidosis에 대한 집중 치료기(intensive phase)에는 ceftazidime 혹은 carbapenem계 항생제를 약 2주 동안 정맥 주사하며, 박멸 치료기(eradication phase) 단계에서는 경구로 trimethoprim/sulfamethoxazole과 doxycycline을 약 2~3주 동안 사용하는 것으로 알려져 있다 (2). 실제 VITEK-2 system을 이용한 항생제 감수성 시험 결과, *B. pseudomallei*가 ceftazidime, imipenem, meropenem, trimethoprim/sulfamethoxazole 등의 항생제에 감수성을 나타내는 것을 확인할 수 있었으며, ceftazidime (MIC breakpoint, 4 µg/ml)의 경우엔 1 µg/ml, imipenem (MIC breakpoint, 2 µg/ml)과 meropenem (MIC breakpoint, 2 µg/ml)의 경우엔 각각 1 µg/ml의 MIC값을 나타내어 melioidosis에 대해 치료제로서의 효과가 있는 것으로 생각되었다(Table 2).

현재까지 국내 melioidosis 환자 발생건수는 총 6건으로 모두 해외 유입사례이나, 최근 해외 여행 및 각종 인구 이동의 증가로 melioidosis에 대한 감염사례가 앞으로 꾸준히 늘어날 것으로 예상되며, 기후 온난화에 따른 melioidosis의 국내 발생 가능성에 대해서도 대비를 해야 할 것이다. 따라서 본 연구는 국내에서 발생하기 어려운 melioidosis에 대한 실험실적 진단 과정을 소개함으로써 추후 melioidosis에 대한 신속 정확한 진단 연구에 대한 기초 자료가 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Currie BJ, Dance DA, Cheng AC. The global distribution of *Burkholderia pseudomallei* and melioidosis: an update. Trans R Soc Trop Med Hyg 2008;102:S1-4.
- 2) Cheng AC, Currie BJ. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology, and management. Clin Microbiol Rev 2005;18: 383-416.
- 3) Seok HJ, Kim JI, Lee JH, Choo EJ, Kwak YG, Jang S, et al. A case of septic pneumonia due to *Burkholderia pseudomallei*.

- Infect Chemother 2004;36:114-7.
- 4) Lee SW, Yi J, Joo SI, Kang YA, Yoon YS, Yim JJ, *et al.* A case of melioidosis presenting as migrating pulmonary infiltration: the first case in Korea. J Korean Med Sci 2005;20:139-42.
 - 5) Son JY, Kwon KT, Choi EJ, Park JP, Song YD, Lee JC, *et al.* Fatal melioidosis in a tourist returning from Cambodia. Korean J Med 2009;77:246-50.
 - 6) Lee HM, Choi SH, Chung JW, Ahn J, Cho AR, Lee MK, *et al.* A case of disseminated melioidosis in a migrant worker from Thailand. Korean J Lab Med 2009;29:140-4
 - 7) Current status and laboratory diagnosis of melioidosis, Korea Centers for Disease Control and Prevention. Public Health Wkly Rep 2010;3:276-9.
 - 8) Ashdown LR. Identification of *Pseudomonas pseudomallei* in the clinical laboratory. J Clin Pathol 1979;32:500-4.
 - 9) Lee MA, Wang D, Yap EH. Detection and differentiation of *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei* and *Burkholderia thailandensis* by multiplex PCR. FEMS Immunol Med Microbiol 2005;43:413-7.
 - 10) Epidemiologic investigation for a melioidosis mortality case, Korea Centers for Disease Control and Prevention. Public Health Wkly Rep 2010;3:180.
 - 11) Gan YH. Interaction between *Burkholderia pseudomallei* and the host immune response: sleeping with the enemy? J Infect Dis 2005;192:1845-50.
-