

Species Identification of Nontuberculous Mycobacteria (NTM) by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (PRA) of the *rpoB* Gene from Three Hospitals of Busan-Kyeongnam Area

Sung-Ran Choi¹, Min-Jung Kang¹, Gyu-Hwan Park¹, Da-Hye Kim¹, Da-Woon Jeong¹, Eun-Hye Seo¹, Hyang-Min Lee¹, Hyun-Kyung Park¹, Jin-Yee Jeong¹, Jung-Min Lee¹, Soo-Young Jeong¹, Jun-Young Lee², Eun-Jin Cho³, Suk Jekal⁴, and Chung-Hwan Kim²

¹Department of Clinical Pathology, Student of Masan University, Changwon 630-729, Korea

²Department of Clinical Pathology, Masan University, Changwon 630-729, Korea

³International Tuberculosis Reserch Center, Changwon 631-320, Korea

⁴Goodmorning Hospital, Changwon 641-811, Korea

Recently, the isolation rate of nontuberculous mycobacteria (NTM) in clinical laboratories and the incidence of NTM infections are on the increase in Korea, but there have been only a few studies that reveal the general aspect of NTM isolation or species distribution. Therefore, this study was performed to examine the species identification by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis (PRA, PCR-RFLP), and the clinical significance of mycobacterial cultures. PRA was used during the novel region of the *rpoB* gene and was developed for rapid and precise identification of mycobacteria to the species level. From January 2012 to April 2012, we examined pre-identified nontuberculous mycobacteria (60 species in 3 hospital of Busan-Kyeongnam area). We confirmed 4 (6.6%) *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and 56 (93.4%) NTM from 60 pre-identified NTM species by multiplex PCR (MolecuTech MTB-ID^R V3, YD Diagnostics, Korea) and PRA (Myco-ID, YD Diagnostics, Korea). The distribution of 56 NTM species were *M. intracellulare* type I 15 (26.7%), *M. avium* 14 (25%), *M. abscessus* 11 (19.5%), *M. kansasii* type I 3 (5.4%), *M. pulveris* 2 (3.6%), *M. intracellulare* type, *M. chelonae*, *M. kansasii* type V, *M. gallinarum*, *M. wolinskyi*. Respectively, 1 (1.8%) and 6 (10.7%) species were not identified.

Keywords: NTM, MTB, PCR, PRA (PCR-RFLP)

Corresponding author: Chung Hwan Kim
Department of Clinical Pathology, Masan University, Changwon 630-729, Korea.
Tel: 82-55-230-0271
E-mail: chkim@masan.ac.kr

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 © 2013 The Korean Society of Clinical Laboratory Sciences. All rights reserved.

Received: May 21, 2013
Revised: June 12, 2013
Accepted: June 19, 2013

서론

비결핵항산균은 비정형(atypical), MOTT (Mycobacteriosis other than tuberculosis) 등으로 불려져 왔으나 1990년 미국호흡기학회에서 Non-tuberculous mycobacteriosis (NTM)으로 명칭을 정리한 이후 비결핵항산균증으로 불리게 되었다(김 등, 2005). 비결핵항산균(nontuberculous mycobacteria, NTM)은 토양이나 물과 같은 자연환경에 흔히 존재하며 건강인에서도 분리되는 비병원성균으로 알려져 왔다(Portaels, 1995). 그러나 후천성 면역결

핍증과 같은 면역기능 저하 환자에게서 기회감염균으로 확인되면 서 주목을 받기 시작하였고 면역기능이 정상인 환자에게 감염이 확인되었다(Prince 등, 1989). 전국적인 조사에 의하면 국내의 결핵(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 유병률은 감소하고 있는 반면에 비결핵항산균증은 1990년대 이후 증가하고 있다(Scientific Committee in Korea Academy of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 1995). 최근에 과거에 비해 비결핵항산균이 임상 검체에서 분리되는 경우가 많아지고 있으며, 비결핵항산균과 관련된 질환의 빈도도 증가하면서, 비결핵항산균 관련 질환에 대한 진단 및 치

료 방법에 대한 관심이 한층 높아졌다(American Thoracic Society, 1997; British Thoracic Society, 2000). 일본의 경우 전체 마이코박테리아에 의한 질환 중 비결핵항산균에 의한 경우가 29.2%에 달한다는 보고가 있었고(Sakatani, 2005), 최근 국내 연구에서도 전체 항산균 중 약 30% 정도에서 비결핵항산균이 분리되고 있으며, 이 중 상당수가 실제 질환과 관련이 있음이 보고되고 있다(Koh 등, 2003; Lee 등, 2005). 비결핵항산균은 임상양상이 결핵과 감별하기 힘들고, 기존 항결핵약제에 높은 내성을 보이며, 치료반응이 좋지 않아 장기간 약제비용요법으로 치료하여야 한다. 또한 동정된 균과 감염부위에 따라서 치료약제 선택과 치료방법이 달라지므로(Koh 등, 2003) 도말표본 양성 환자의 배양검사서 비결핵항산균과 결핵균을 초기에 구별하고 균 종 수준까지 동정하는 것은 매우 중요한 의미가 있다 하겠다. 현재 미국의 경우 객담 항산균 도말 검사서 양성인 경우, 증폭검사를 시행하여 잠정 진단하고 최종 진단은 반드시 배양결과를 가지고 확인하도록 권장하고 있다(Centers for Disease Control and Prevention, 2000). 그러나, 국내의 경우 상대적으로 결핵의 유병률과 발생률이 높고 비결핵항산균 폐질환의 빈도가 낮다고 간주되어, 객담 항산균 도말검사서 양성일 경우 대부분 결핵으로 간주하여 왔으며, 배양 후에도 결핵균과 비결핵항산균을 구별하고 있는 검사실은 많지 않은 실정이다(Kim 등, 1999). 최근 국내에서도 비결핵항산균 질환이 증가하는 추세로(Scientific Committee in Korea Academy of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 1995) 비결핵항산균 균주와 비결핵항산균 질환에 대한 체계적인 연구와 검사실 차원의 정확한 비결핵항산균 동정이 요구되고 있다(박 등, 2006). 전통적으로 비결핵항산균은 균 집락의 색, 모양, 성장속도 등으로 구분하였고 니아신(niacin) 생성, 질산염(nitrate) 환원, Tween-80 가수분해와 같은 생화학적 방법을 이용하여 동정하였다. 이러한 생화학적인 동정방법은 정확한 균 종 동정이 힘들고 시간이 많이 걸리며 숙달된 인력이 필요하다. 최근에는 고성능액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)를 이용하여 결핵균 세포벽의 특이성분인 미콜산(mycolic acid)을 분석하는 방법(Jeong 등, 2004), 핵산 탐색자법(김 등, 2005), 중합효소연쇄반응-제한절편길이다형성 분석(PCR-restriction fragment length polymorphism analysis, PRA, PCR-RFLP)(Lee, 2000; Kim 등, 2005) 등이 비결핵항산균을 동정하는 데 사용하고 있다.

본 연구는 2012년 1월부터 4월까지 부산 및 경남 3개 종합병원에서 비결핵항산균으로 동정된 환자 검체 60개를 수집하여 multiplex-PCR을 실시해 비결핵항산균을 확인하고, 모든 mycobacteria가 가지고 있는 *rpoB* 유전자를 증폭하고 제한효소로 처리하여 유전자의 절편길이 다형성을 분석하는 중합효소연쇄

반응-제한효소절편길이다형성분석(PRA, PCR-RFLP)을 실시하여 비결핵항산균을 동정하고 균 종별 분포를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 검체

2012년 1월부터 4월까지 부산, 경남 지역 3개 종합병원에서 비결핵항산균으로 동정보고 된 60개 균을 수집하였다. 이 중 40개는 액체배지에 자란 균, 20개는 고체배지에 집락을 형성한 균으로 수집되었다. 이 중 40개의 균은 환자의 성별구분이 가능하였고(남성 18개, 여성 22개) 20개의 균은 환자 성별구분에 대한 정보를 수집하지 못하였다.

2. DNA 분리

검체에서 DNA를 분리하는 방법은 고체배지에 배양된 균은 멸균 백금으로 1~2개의 집락을 떼어낸 후 PRA Myco-ID (YD Diagnostics, Gyeonggi-do, Korea)에 내장된 DNA 추출용액 50 μ L에 잘 풀고 1분간 진탕 후 Heating block (THERMOLYNE Type 17,600 Dry-Bath DB17615, BARNSTEAD/THERMOLYNE, USA)에서 100°C로 10분간 가열한 후 13,000 rpm에서 3분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 액체배양된 균은 진탕하여 고르게 부유시킨 후 액체배지 1 mL를 채취하여 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 완전히 제거하고 멸균된 증류수 1 mL에 부유시켜 13,000 rpm에서 5분간 원심분리 후 상층액을 완전히 제거하는 방법으로 2회 반복 실시한 후 침전된 균을 고체배지에서의 추출방법과 동일하게 실시하였다.

3. Multiplex PCR

결핵균과 비결핵항산균을 구별하도록 고안된 MolecuTech MTB-ID^R V3 (YD Diagnostics, Gyeonggi-do, Korea) 키트로 multiplex PCR을 시행하여 결핵균에만 특이하게 존재하는 RD (Region of Difference) 유전자 부위(Behr 등, 1999)와 모든 mycobacteria에 공통으로 존재하는 *rpoB* 유전자 부위를 동시에 증폭하여 결핵균에 특이성인 204 bp의 RD 유전자 밴드와 결핵균과 비결핵항산균에 공통으로 존재하는 360 bp의 *rpoB* 유전자 밴드를 확인하였다. PCR 혼합액은 2× PCR premix 10 μ L, primer mixture 4 μ L, 검체 DNA 3 μ L, 증류수 3 μ L를 혼합해 total volume 20 μ L로 만들었다. PCR 기기(GeneAMP PCR System 2700, Applied Biosystems, USA)를 사용하여 94°C/5분 pre-denaturation 후 RD 유전자 증폭을 위해서 94°C/30초 denaturation, 70°C/30초 annealing, 70°C/30초 elongation 순서로 10 회, *rpoB* 유전자 증

폭을 위해 94°C/30초 denaturation, 68°C/30초 annealing, 72°C/30초 elongation 순서로 30회 진행 후 최종 elongation으로 72°C/7분 조건으로 수행하였다. 결과 확인을 위한 전기영동은 2% TBE agarose gel에 6 V/cm로 30분간 전기영동시킨 후, gel을 EtBr로 10분간 염색 후 수돗물로 10분간 탈색하여 UV transilluminator (WGD-30S, DAIHAN Saentific, Korea)를 이용하여 관찰하였다.

4. *rpoB* 유전자 증폭과 제한효소 처리

비결핵항산균의 종 감별을 위한 중합효소연쇄반응 제한절편길이다형성분석(PCR-restriction fragment length polymorphism analysis, PRA)은 PRA Myco-ID (YD Diagnostics, Korea) 키트를 사용하여 실시하였다. PCR 혼합액은 2× PCR premix 25 µL, primer1 1 µL, primer2 1 µL, 검체 DNA 5 µL, 멸균 증류수 18 µL로 total volume 50 µL로 PCR 혼합액을 만들었다. PCR 기기 (GeneAMP PCR System 2700, Applied Biosystems, USA)를 사용하여 94°C/5분 predenaturation, 94°C/20초 denaturation, 58°C/40초 annealing, 72°C/60초 elongation 순서로 35회, 72°C/7분 최종 elongation 조건으로 PCR을 시행하였다. 결과 확인을 위한 전기영동은 2% TBE agarose gel에 6 V/cm로 30분간 전기영동시킨 후, gel을 EtBr로 10분간 염색 후 수돗물로 10분간 탈색하여 UV transilluminator (WGD-30S, DAIHAN Saentific, Korea)를 이용하여 관찰하였다.

제한효소 처리는 *rpoB* 유전자 증폭액 15 µL, *MspI* (10 U/ µL) 0.5 µL, 10× *MspI* buffer 2 µL, 멸균 증류수 2.5 µL를 혼합해 total volume 20 µL로 제한효소 반응액을 만들어서 약하게 진탕하여 quick-spin 후 37°C 항온수조에서 하룻밤 동안 반응을 시키고 제한효소 반응액 10 µL를 키트에 제공되어 있는 4% metaphor TBE

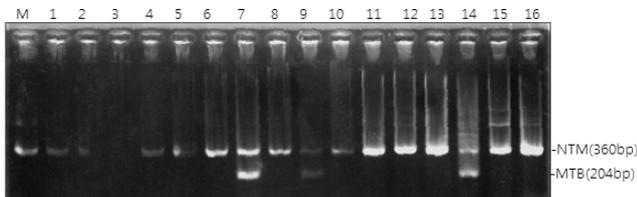


Fig. 1. Agrose gel electrophoresis of multiplex PCR in pre-identified strains of NTM. M: DNA size marker (50 bp ladder); lane1-6, 8, 10-13, 15-16: NTM; lane 7, 9, 14: suggested MTB.

Table 1. Screening numbers of NTM and MTB by multiplex PCR in the 60 strains of pre-identified NTM

Identified strain	Numbers (%)
NTM	56 (93.4)
MTB	4 (6.6)
Total	60 (100)

agarose gel에 100 V에서 40~60분 간 전기영동(Mupid-ex, Advance, Japan) 탱크를 얼음에 방치한 상태로 전기영동시킨 후, EtBr로 10분간 염색 후 수돗물로 10분간 탈색하여 UV transilluminator (WGD-30S, DAIHAN Saentific, Korea)를 이용하여 관찰하였다.

결 과

1. Multiplex PCR

부산, 경남 지역 3개 종합병원에서 비결핵항산균으로 동정된 균 60개를 multiplex PCR을 실시하여 확인한 결과 56개(93.4%)는 비결핵성항산균으로 확인되었으나 4개의 균(6.6%)은 결핵균으로 의심되어(Fig. 1, Table 1) 중합효소연쇄반응 제한절편길이다형성 분석(PRA)을 위한 *rpoB* 유전자증폭을 시행하였다.

2. 중합효소연쇄반응 제한절편길이다형성분석(PRA, PCR-RFLP)

비결핵성항산균으로 확인 된 56개의 균과 결핵균으로 의심되는 4개 균 모두 *rpoB* 유전자 증폭을 위한 PCR을 시행하여 360bp 밴드를 확인하였다(Fig. 2).

rpoB 유전자 증폭액을 제한효소 *MspI* (10 U/µL)을 사용하여 37°C 항온수조에서 하룻밤 동안 반응시키고 전기영동한 결과(Fig. 3)와 PRA Myco-ID 키트의 비결핵항산균 동정을 위한 algorithm (Fig. 4)을 이용하여 분석한 결과는 Table 2와 같다.

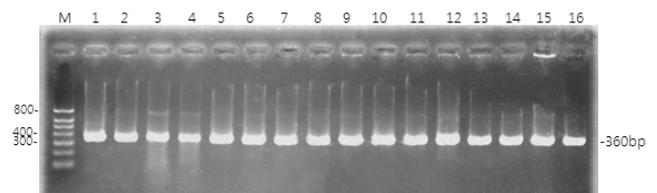


Fig. 2. Application of *rpoB*-based PRA for species identification of mycobacterial isolates. The 360bp PCR products using primers primer1 and primer2.

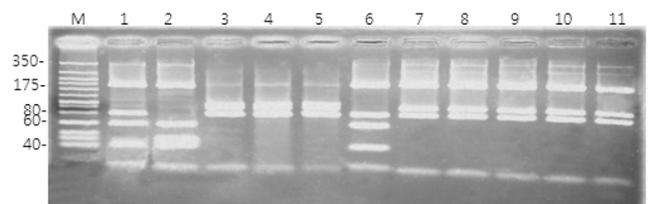


Fig. 3. Results of PRA for isolates strains. Amplified DNA was digested with *MspI* restriction enzyme and run on a 4% Metaphore agarose gel (M: maker, lane1: MTB standard, lane2: *M. kansasii* type I, lane3-5: *M. abscessus*, lane6: MTB, lane7-11: *M. intracellulare* type I).

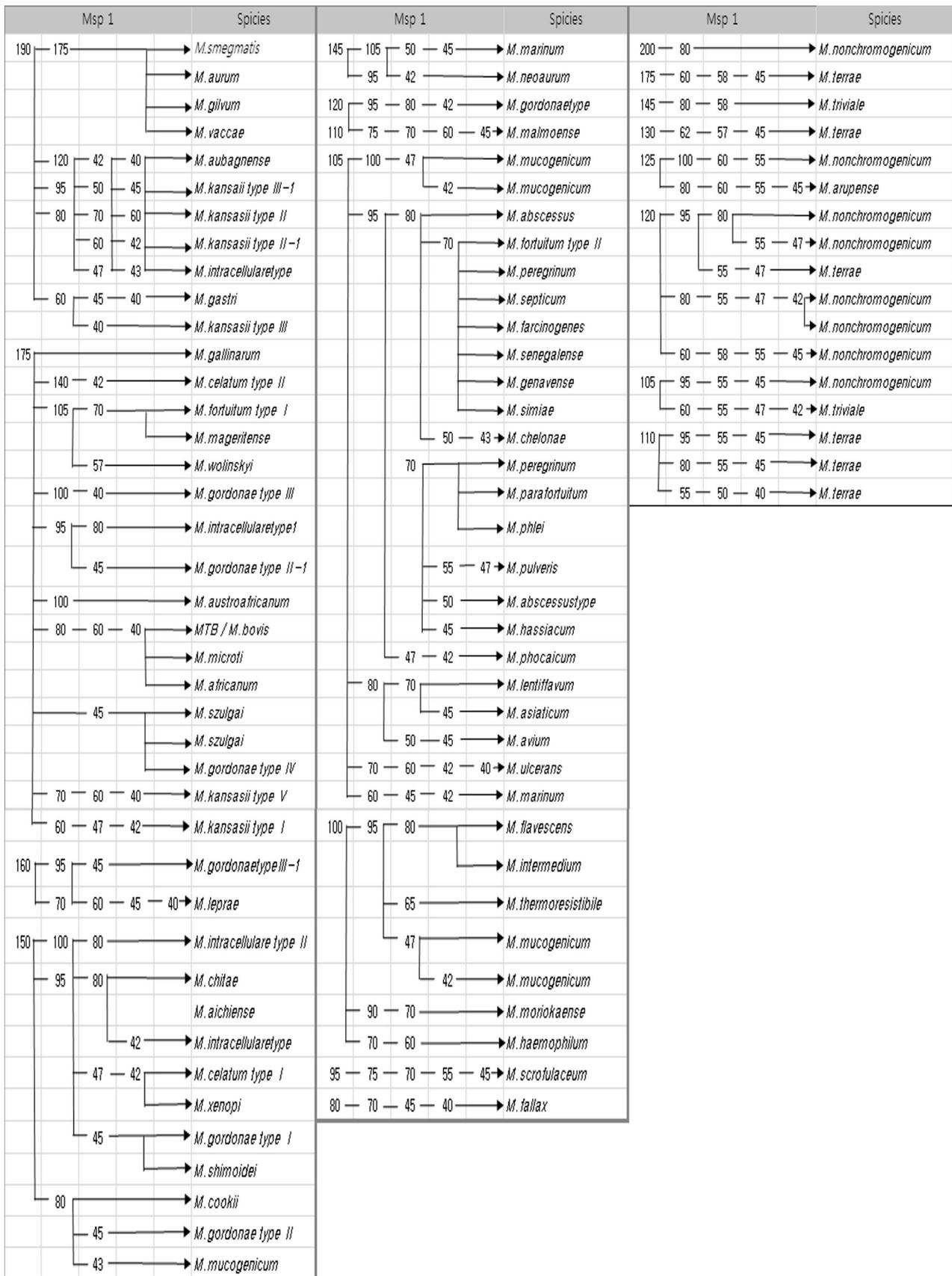


Fig. 4. Identification algorithm for NTM by PRA (PCR-RFLP).

Table 2. Numbers of identified NTM species

Species	No (%)
<i>M. intracellulare</i> type I	15 (26.7)
<i>M. avium</i>	14 (25.0)
<i>M. abscessus</i>	11 (19.5)
<i>M. kansasii</i> type I	3 (5.4)
<i>M. pulveris</i>	2 (3.6)
<i>M. intracellulare</i> type	1 (1.8)
<i>M. chelonae</i>	1 (1.8)
<i>M. kansasii</i> type V	1 (1.8)
<i>M. gallinarum</i>	1 (1.8)
<i>M. wolinskyi</i>	1 (1.8)
Non-identification	6 (10.7)
Total	56 (100)

고찰

국내의 비결핵항산균의 분리율은 과거에 비해 증가하고 있는 추세이며 균종 별 분리율은 *M. avium*과 *M. intracellulare*가 속하는 *M. avium* complex (MAC)가 42.1~65.2%로 가장 높고 다른 균종은 보고마다 다소 차이가 있는 것으로 나타나고 있지만 *M. abscessus*, *M. fortuitum* complex, *M. kansasii*, *M. goodii* 등의 순으로 보고되고 있다(Scientific Committee in Korea Academy of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 1995; Jeong, 2004).

본 연구에서는 비결핵항산균을 동정하는 데 고가의 장비를 필요로 하지 않고 신속하게 동정할 수 있는 장점을 갖고 있는 PRA를 이용하여 부산, 경남지역 3개 종합병원에서 NTM으로 동정보고된 60개 균주를 수집하여 동정을 수행하였다. 그 중 4개의 균주가 multiplex PCR과 PRA를 이용한 확인 실험에서 MTB로 동정되었다. 이것은 아마도 복합감염 환자의 검체에서 MTB 집락 혹은 균주가 선택되어 발현되었으리라 추측되며 실제로 결핵환자에서 10% 정도에서 MTB와 NTM의 복합감염환자라는 보고도 있다(박, 2009). 하지만 이런 경우 정확한 진단을 위해 초기 진단에서 좀 더 신중을 기하는 것이 아주 중요할 것으로 사료된다. 56개 균주의 PRA에 의한 동정에서는 다른 보고와 유사하게 *M. intracellulare* type I이 15개(26.7%), *M. avium*이 14개(25%)로, *M. avium* complex (MAC)가 51.7%로 가장 분리 동정 빈도가 높았고 *M. abscessus* 역시 11개(19.5%)로 높은 분리 동정률을 보였다. 비결핵항산균 폐질환의 원인균 분포는 지역에 따라 차이를 보이는데 서구와 일본에서는 MAC에 이어 *M. kansasii*가 두 번째로 흔한 비결핵항산균 폐질환의 원인균임에 비해, 지금까지의 국내 보고와 유사하게 본 연구에서도 MAC에 이어 *M. abscessus*가 두 번째로 흔한 NTM으로 나타났다. 미 동정된 6개의 균주는 Hae III 효소처리를

통하여 최종 동정이 가능한 균주이나 예측되는 균종이 비결핵성항산균에 의한 폐질환 원인균으로서 가능성이 아주 적은 것이라(박, 2009) 본 실험에서는 시행하지 않았다.

참고문헌

- American Thoracic Society. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997, 156(s):1-25.
- Behr MA, Wilson MA, Gill WP, Salamon H, Schoolnik GK, Rane S, et al. Comparative Genomics of BCG Vaccines by Whole-Genome DNA Microarray. *Science.* 1999, 284:1520-1523.
- British Thoracic Society. Management of opportunistic mycobacterial infections: Joint Tuberculosis Committee Guidelines 1999. *Thorax.* 2000, 55:210-218.
- Centers for Disease Control and Prevention. Update: Nucleic acid amplification test for tuberculosis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2000, 49:593-594.
- Jang MH, Choi GE, Chang CL, Kim YD. Characteristics of molecular strain typing of Mycobacterium tuberculosis isolated from Korea. *Korean J Clin Microbiol.* 2011, 14:2.
- Jeong J, Lee SH, Jeong US, Chang CH, Kim SR. Identification of mycobacteria using high performance liquid chromatography in clinical specimens. *Korean J Clin Microbiol.* 2004, 7:148-155.
- Jung CL, Kim MK, Seo DC, Lee MA. Clinical usefulness of real-time PCR and amplicor MTB PCR assays for diagnosis of tuberculosis. *Korean J Clin Microbiol.* 2008, 11:1.
- Kim H, Kim SH, Shim TS, Kim MN, Bai GH, Park YG, et al. PCR restriction fragment length polymorphism analysis (PRA)-algorithm targeting 644 bp Heat Shock Protein 65 (hsp65) gene for differentiation of Mycobacterium spp. *J Microbiol Methods.* 2005, 62:199-209.
- Kim MN, Lee SH, Yang SE, Pai CH. Mycobacterial testing in hospital laboratories in Korea: results of a survey of 40 university or tertiary-care hospitals. *Korea J Clin Pathol.* 1999, 19:86-91.
- Koh WJ, Kwo OJ, Yu CM, Jeon K, Suh GY, Chung MP, et al. Recovery rate of nontuberculous mycobacteria from acid-fast-bacilli smear positive sputum specimens. *Tuberc Respir Dis.* 2003, 54:22-32.
- Koh WJ, Kwon OJ, Lee KS. Diagnosis and treatment of nontuberculous mycobacterial pulmonary diseases: a Korean perspective. *J Korean Med Sci.* 2005, 20:913-925.
- Lee H, Park HJ, Cho SN, Bai GH, Kim SJ. Species identification of mycobacteria by PCR-restriction fragment length polymorphism of the *rpoB* gene. *J Clin Microbiol.* 2000, 38:2966-2971.
- Lee HY, Park HJ, Cho SN, Bai GH, Kim SJ. Species identification of Mycobacteria by PCR-Restriction fragment length polymorphism of the *rpoB* gene. *J Clin Microbiol.* 2000, 38:2966.
- Lee JY, Choi HJ, Lee H, Joung EY, Huh JW, Oh Y, et al. Recovery rate and characteristics of nontuberculous mycobacterial isolates in a university hospital in Korea. *Tuberc Respir Dis.* 2005, 58:385-391.
- Lee SD, Lee HY, Kim HC, Kim SY. Mycobacterium tuberculosis and nontuberculous Mycobacteria by PCR assay. *Korean J Clin Microbiol.* 2007, 10:2.
- Portaels F. Epidemiology of mycobacterial diseases. *Clin Dermatol.* 1995, 13:207-222.

Prince DS, Peterson DD, Steiner RM, Gottlieb JE, Scott R, Lsrael HL, *et al.* Infection with Mycobacterium avium complex in patients with out predisposing conditions. *N Engl J Med.* 1989, 321:863-868.

Sakatani M. The non-tuberculous mycobacteriosi. *Kekkaku.* 2005, 80:25-30.

Scientific Committee in Korea Academy of Tuberculosis and Respiratory Diseases. National survey of mycobacterial diseases other than tuberculosis in Korea. *Tuberc Respir Dis.* 1995, 42: 277-294.

권용수. 비결핵 항산균 폐질환의 진단과 치료. *대한내과학회지.* 2012, 83:3.

김정훈, 서진태, 박수연, 이희주, 이우인. 호흡기 검체에서 분리된 비결핵 마이코박테리아 10예의 임상적 고찰. *대한진단검사의학회지.* 2004, 24: 49-52.

김희규, 김유리, 박정필, 김남희, 옥철호, 정만홍 등. DNA probe를 이용한 비결핵항산균의 분리 및 폐질환자들의 임상적 특징. *대한결핵 및 호흡기학회지.* 2005, 58:3.

박재석. 호흡기 내과 의사를 위한 Respiratory Review 2009: 비결핵항산균. *대한결핵 및 호흡기학회지.* 2009, 67:395-401.

박철민, 허세린, 박경운, 송정한, 이재호, 이춘택 등. 중합효소연쇄반응-제한 절편길이다형성을 이용한 비결핵항산균의 분리. *대한진단검사의학회지.* 2006, 26:161-167.

윤은영, 조수희, 고세일, 백종하, 김유은, 마정은 등. 결핵균과 비결핵성항산균 검출에 real-time PCR의 유용성. *대한결핵 및 호흡기학회지.* 2010, 69:250-255.

이재승, 지현숙, 홍상범, 오연목, 임채만, 이상도 등. 객담 항산균 도말 양성 환자에서 비결핵항산균과의 감별을 위한 결핵균 중합효소연쇄반응 검사의 유용성. *대한결핵 및 호흡기학회지.* 2005, 58:5.

이종석, 김성광, 이재열, 이태윤. 대구-경북지역에서 분리된 결핵균주의 IS6110-restriction fragment length polymorphism 분석. *대한미생물 및 바이러스학회지.* 2001, 31:29-37.

임재준, 한성구. 비결핵성 마이코박테리아 폐질환의 진단과 치료. *대한의사협회지.* 2005, 48:563-570.

조은경, 최대경, 백태현, 박정규, 김화중. 중합효소연쇄반응을 이용한 객담내 결핵균 검출에 관한 연구. *대한미생물학회지.* 1993, 28:2.

최순필, 이봉근, 민진홍, 김진희. 일개 국립결핵병원에서 경험한 비결핵성 마이코박테리아 폐질환의 원인균과 임상상. *대한결핵 및 호흡기학회지.* 2005, 59:6.

홍윤기, 조경옥, 이혜영, 김미나, 성홍섭, 오연목 등. 폐결핵 환자의 말초 혈액에서 중합효소연쇄반응을 이용한 결핵균 DNA의 검출. *대한결핵 및 호흡기학회지.* 2007, 63:4.