

세침흡인검사 검체를 이용한 결핵성 림프절염의 분자검사

정민정

고신대학교 의과대학 병리학교실

Molecular Test for Tuberculous Lymphadenitis with Fine Needle Aspiration Specimen

Min-Jung Jung

Department of Pathology, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Background : The aim of this report is to show the usefulness of nested TBc PCR of fine needle aspiration specimen with scratching of conventional cytologic slide or fresh aspirated material.

Material and Method : Twenty seven cases tested by fine needle aspiration cytology and nested TBc PCR are retrospectively collected for about two years. Their cytologic feature and result of nested Tbc PCR are reviewed and compared according to sampling method for nested TBc PCR.

Result : The nested TBc PCR among the granulomatous lesion is positive reaction in 4 cases/5 cases(80%) and 7 cases/8 cases (87%) with scratched material from conventional cytologic glass slide and fresh aspirated material, respectively. Two cases among five cases showing necrotic material without granuloma is diagnosed as tuberculous lymphadenitis.

Conclusion : Scratched material from conventional cytologic glass slide seem to be also valuable for nested TBc PCR, although small number of collected case is limited. If sufficient material is unavailable for evaluation of tuberculosis, nested TBc PCR with scratched material from conventional cytologic glass slide may be helpful.

Key words : Tuberculous lymphadenitis, Fine needle aspiration, nested PCR, scratched material

서 론

대한민국에서 결핵은 감소추세에 있지만 다른 나라와 비교하여 아직 높은 발병률을 보인다. 2006년 정부의 정보감시체계에 신고된 결핵환자는 46,284명으로 100,000명당 90명을 상회한다. 일반적으로 결핵은 폐에서 호발하지만, 폐외결핵은 림프절에 가장 호발한다.¹⁾ 본 연구에서는 결핵성 림프절염의 진단을 위한 검사방법 중 하나인 nested PCR의 검사방법 중 이제껏 흔히 사용되지 않던 방법의 경험을 보고하고 그 유용성을 살펴보고자 한다.

연구대상과 방법

고신대학교 복음병원 병리과에서 2006년 11월부터 2008년 11월까지 림프절의 세포검사와 결핵균에 대한 nested PCR을 동시에 시행한 환자를 대상으로 하여 환자의 임상정보 및 병리학적 검사소견을 환자의 의료기록 및 병리검사결과를 토대로 하여 후향적으로 살펴보았다. 2군의 환자를 대상으로 하였고, 한 군은 임상각과에서 시행한 세침흡인세포검사의 이미 제작된 세포검사용 슬라이드에 도말된 검체를 이용하여 nested PCR을 시행한 군이며, 또다른 군은 같은 기간에 병리과에서 시행한 세침흡인세포검사 중에서 세포검사와 nested PCR검사를 동시에 시행한 군이다.

병리과에서 시행된 세침흡인검사는 세침흡인 후 즉시 시행한 Diff-Quick 염색에서 육아종이 관찰되거나 임상의 요청이 있는 경우에 nested PCR을 위하여 추가적인 신선검체를 채취하고, 검체가 들어있는 주사기와 주사바

교신저자 : 정 민 정
주소 : 602-702 부산광역시 서구 압남동 34번지
고신대학교 의과대학 병리학교실
TEL : 051-990-6325, FAX : 051-241-7420
E-mail : mj2smile@hanmail.net

늘을 90% 알코올에 씻어낸 후 nested PCR을 시행하였다. 임상각과에서 시행한 세침흡인검사는 육아종이나 괴사가 관찰되는 경우와 임상적으로 결핵의 가능성이 고려되는 경우에 이미 제작된 세포검사용 슬라이드에 도말된 검체를 이용하여 nested PCR을 시행하였다. 검체를 얻는 방법은 대표적인 슬라이드를 크실렌을 이용하여 슬라이드 덮개를 떼어내고 100% 알코올과 95% 알코올에 각각 30회씩 씻어낸 후 증류수에서 행구고 1% 염산을 이용하여 이미 시행된 염색을 탈색시켰다. 이후 일회용 칼을 이용하여 슬라이드에 도말된 검체를 긁어내고 증류수를 소량 떨어뜨린 후 피펫을 이용하여 1.5ml 튜브로 옮겼다. 5분간 15,000rpm에서 원심분리를 시행한 후 상층액은 버리고 침전물을 DNA 추출에 사용하였다.

Table 1. Primers for Mycobacterium tuberculosis

Primer	DNA sequences
KBN 1 (TB nested set I)	ggATggTCgCAgAgATCCgC
KBN 2 (TB nested set I)	CgATgCCCTCACGGTTCAGG
KBN 3 (TB nested set I)	ggTCAGCACgATTCCgAgTg
KBN 4 (TB nested set I)	CggggCCCTCgCggTggCCC
KBN 5 (TB nested set II)	CTCAAggAgCACATCATCAgC
KBN 6 (TB nested set II)	TAgTgCATTgTCATAggAgCTTCCgACC
KBN 7 (TB nested set II)	CTACggTgTTTACggTgCCC
KBN 8 (TB nested set II)	TAggCgTCggTgACAAAggC

DNA 추출은 AbsoluteTMMTB PCR kit (Biosewom inc. Korea)를 사용하였다. (표 1) DNA extraction buffer를 vortex로 섞어준 후 침전물이 들어있는 튜브에 50 μ l를 첨가하여 vortex로 섞고 56 $^{\circ}$ C에서 15분간 방치한 후 잘 혼합하였다. heating block에서 100 $^{\circ}$ C로 8분간 가열하고 온도가 떨어질 때까지 vortex로 20초간 섞은 후 13,000rpm에서 2분간 원심분리하여 상층의 액체 부분만 4.5 μ l 취하여 PCR 검사에 이용하였다. 1차 PCR은 1차 PCR mixture 15.0 μ l, 1차 PCR enzyme 0.5 μ l의 비율로 제조한 1차 PCR 마스터 혼합액 15.5 μ l를 PCR 튜브에 나누어 분주하고 검체로부터 추출한 DNA 4.5 μ l를 각각의 튜브에 분주하였다. PCR processing은 95 $^{\circ}$ C에서 5분간의 initial denaturation 후, 94 $^{\circ}$ C에서 30초간의 denaturation, 68 $^{\circ}$ C에서 30초간의 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 30초간의 elongation 과정을 반복하는 thermostep cycle을 35회 시행하고 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분간의 elongation을 시행하였다. 2차 PCR은 2차 PCR mixture 18.0 μ l, 2차 PCR enzyme 0.5 μ l의 비율로 제조한 2차 PCR 마스터 혼합액 18.5 μ l를 PCR 튜브에 나누어 분주하고 1차 PCR 산물 1.5 μ l를 각각의 튜브에 분주하였다. PCR processing은 95 $^{\circ}$ C에서 5분간의 initial denaturation 후, 94 $^{\circ}$ C에서 30초간의 denaturation, 65 $^{\circ}$ C에서 30초간의 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 30초간의

Table 2. Summary of clinical data

Case	Age	Sex	Location of LN	Past history	Final diagnosis
Case 1	67	M	Mediastinum	NS	Under evaluation
Case 2	41	M	Neck	NS	TBc of LN
Case 3	58	F	Mediastinum	Pulmonary tuberculosis	TBc of LN (S/O brain, heart involvement)
Case 4	46	M	Neck	NS	Herpes Zoster
Case 5	47	F	Neck	NS	TBc of LN
Case 6	39	F	Mediastinum	NS	NS
Case 7	2	M	Neck	NS	NS
Case 8	69	F	Neck	NS	TBc of LN (S/O lung involvement)
Case 9	55	M	Mediastinum	Stomach cancer	TBc of LN (clinically lung involvement)
Case 10	44	M	Mediastinum	NS	TBc of LN
Case 11	19	M	Neck	NS	NS
Case 12	67	F	Neck	NS	TBc of LN
Case 13	43	F	Neck	NS	TBc of lung, clinically
Case 14	17	M	Neck	NS	TBc of LN
Case 15	45	M	Inguinal area	NS	Syphilis
Case 16	35	F	Neck	NS	NS
Case 17	13	M	Axilla	NS	TBc of LN
Case 18	35	F	Neck	NS	NS
Case 19	17	F	Neck	NS	NS
Case 20	29	M	Neck	Sarcoidosis	Sarcoidosis
Case 21	15	F	Neck	NS	Kikuchi disease
Case 22	56	M	Neck	NS	TBc of lung and LN
Case 23	23	M	Neck	NS	TBc of lung and LN
Case 24	69	M	Neck	NS	Metastatic adenocarcinoma
Case 25	26	M	Neck	NS	Kikuchi disease
Case 26	76	M	Neck	Stomach cancer	TBc of LN
Case 27	48	M	Neck	NS	TBc of lung and LN

(NS: not-specific, LN: lymph node, TBc: tuberculosis, S/O: suspicious of)

Table 3. Summary of cytologic finding and PCR results

Case	Granuloma	Necrosis	Other finding	Specimen type for PCR	Result of PCR
Case 1	-	-	NS	slide scratch	negative
Case 2	+	-	NS	fresh material	positive
Case 3	-	+	NS	slide scratch	positive
Case 4	-	-	NS	slide scratch	negative
Case 5	+	+	many neutrophils	slide scratch	positive
Case 6	+	-	NS	slide scratch	negative
Case 7	-	+	many neutrophils	fresh material	negative
Case 8	+	+	NS	fresh material	positive
Case 9	+	-	NS	slide scratch	positive
Case 10	+	+	many neutrophils	slide scratch	positive
Case 11	-	-	NS	slide scratch	negative
Case 12	+	+	NS	slide scratch	positive
Case 13	-	-	NS	slide scratch	negative
Case 14	+	-	NS	fresh material	positive
Case 15	+	-	NS	fresh material	negative
Case 16	-/+	-	NS	fresh material	negative
Case 17	+	-	NS	fresh material	positive
Case 18	-/+	-	NS	slide scratch	negative
Case 19	-	-	NS	slide scratch	negative
Case 20	-/+	-	NS	fresh material	negative
Case 21	-	-	nuclear debris	fresh material	negative
Case 22	-/+	+	NS	Cell block	negative
Case 23	+	+	many neutrophils	fresh material	positive
Case 24	-	+	NS	slide scratch	negative
Case 25	-	+	nuclear debris	fresh material	negative
Case 26	+	-	NS	fresh material	positive
Case 27	+	-	NS	fresh material	positive

(- : absent, + : present, +/- : suspicious, NS: non-specific)

elongation 과정을 반복하는 thermostep cycle을 25회 시행하고 마지막으로 72℃에서 5분간의 elongation을 시행하였다. PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 전기 영동하여 확인하였다. 181bp크기의 amplicon이 나오거나 181bp와 256bp크기의 두개의 amplicon이 나오는 경우는 결핵으로 판정하였다.

결 과

연구대상은 총 27명으로 고신대학교 복음병원 병리과에서 약 2년 동안 림프절의 세침흡인검사의 검체를 이용한 세포검사와 결핵균에 대한 nested PCR검사가 동시에 시행된 환자였다. 대상 환자는 남자 17명, 여자 10명이었으며, 연령은 2세부터 69세의 연령분포를 보였다. 검체를 채취한 부위는 경부 20례, 종격동 5례, 액와부 1례, 서혜부 1례로 대다수는 경부 림프절에서 채취되었다. 그 중 질병에 대한 과거력이 있는 환자는 4례였고 각각 폐결핵 1례, 위암 2례, 유육종증 1례였으며 전자의 3례는 결핵성 림프절염으로, 후자의 1례는 림프절을 침범한 유육종증으로 최종 진단을 받았다. (표 2) nested PCR 검사를 위하여 27명의 환자 중 13례는 이미 제작된 세포검사용 슬라이드에 도말된 검체를 이용하였고, 다른 13례는 세침흡인검사 중 채취한 신선검체를 이용하였으며, 나머지 1례는 세침흡인검사에 동반된 세포절편(cell block)을 이용하였다. (표 3)

육아종은 총 13례에서 관찰되었으며 13례 중 11례는 nested PCR 양성 반응이었으나 나머지 2례는 nested PCR 음성 반응을 보였다. nested PCR 양성 반응인 11례는 결핵으로 진단되었으나, nested PCR 음성 반응인 증례 중 1례는 매독으로 최종 진단되었고, 나머지 1례는 육아종을 유발한 원인이 밝혀지지 않았다. 육아종이 의심되는 병변이 4례에서 관찰되었으며 모두 nested PCR 음성 반응을 보였고, 그 중 1례는 유육종증으로, 다른 1례는 다른 검사실 결과 및 임상적인 소견을 종합하여 폐결핵과 동반된 결핵성 림프절염으로 최종 진단되었고 나머지 2례는 특정질환으로 분류되지 않았다.

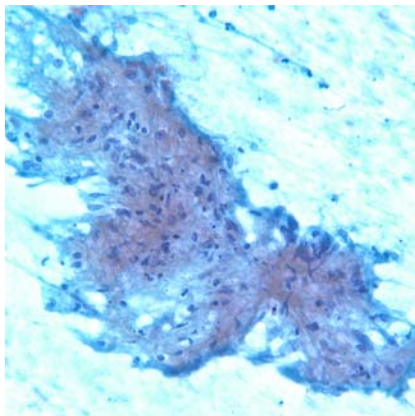
육아종은 총 13례에서 관찰되었으며 13례 중 11례는 nested PCR 양성 반응을 보였고, 그 중 1례는 유육종증으로, 다른 1례는 다른 검사실 결과 및 임상적인 소견을 종합하여 폐결핵과 동반된 결핵성 림프절염으로 최종 진단되었고 나머지 2례는 특정질환으로 분류되지 않았다.

nested PCR 양성 반응을 보인 12례 중 11례에서 육아종이 관찰되었으나, 나머지 1례는 육아종이 없이 괴사성 물질만이 관찰되었고 결핵성 림프절염으로 최종 진단되었으며, 임상적으로 뇌와 심장의 결핵으로 추정되었다. 뚜렷한 육아종을 형성하지 않으면서 저명한 괴사성 물질로 구성된 증례는 총 5례였으며, 앞서 설명된 1례를 제외한 4례는 각각 암종 전이로 인한 중앙괴사 1례, 키쿠치병

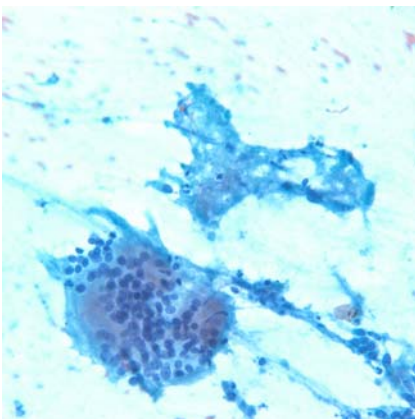
1례, 결핵 1례로 최종 진단되었고, 나머지 1례는 추후에 시행된 조직검사에서 괴사성 육아종 염증으로 진단되었으나 nested PCR은 2차례 모두 음성이었다.

검체를 채취한 방법에 따라서 세침흡인검사 중 채취한 신선검체를 이용한 군과 슬라이드에 도말된 검체를 이용한 군으로 나누어보았을 때 육아종을 보이는 검체에서 nested PCR이 양성 반응을 보이는 증례는 각각 87%(7례/8례), 80%(4례/5례)로 유사한 경향을 보였다. (그림 1,2,3)

세침흡인검사에 동반된 세포절편(cell block)을 이용한 1례는 분명한 육아종을 보이지는 않았지만 괴사성 물질과 함께 유상피세포를 닮은 세포가 소량 관찰되었고 nested PCR와 항산균 검사는 음성 반응을 보였다. 하지만, 기관지세척액을 이용한 항산균 염색과 PCR 교잡검사에서 양성 반응을 보여 폐와 림프절을 침범한 결핵으로 최종 진단되었다.

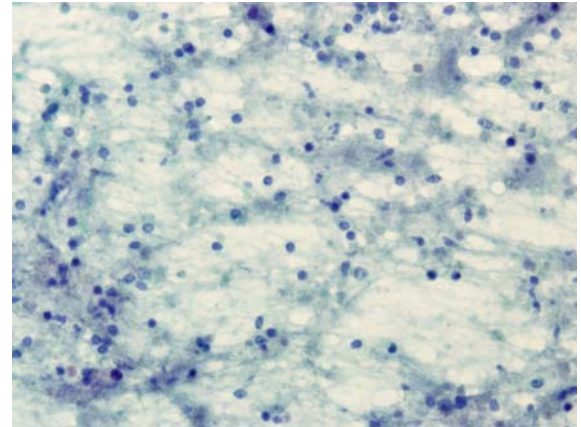


A

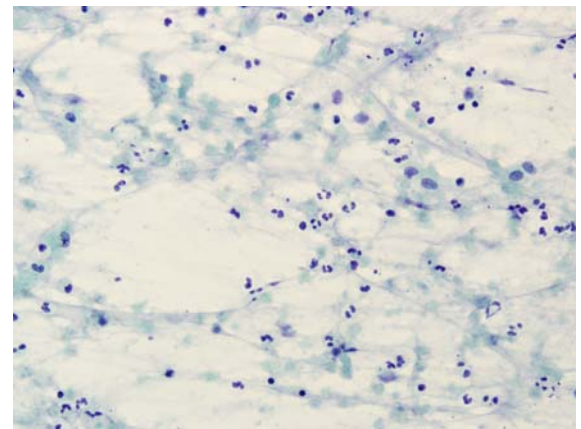


B

Fig. 1. Fine needle aspiration cytology. (A) granuloma composed of epithelioid histiocytes (B) multinucleated giant cells (Papanicolaou's stain)



A



B

Fig. 2 Necrosis. (A) necrotic ghost cell outline and granular material without neutrophils (B) necrotic ghost cell outline and granular material with neutrophils



Fig. 3. Nested Tbc PCR (Lane 1 and 6) positive reaction, (Lane 2. 3. 4 and 5) negative reaction, (Lane 7) positive control, (Lane 8) negative control

고 찰

결핵성 림프절염의 진단은 림프절 절제술 검체의 조직 검사, 항산균 염색, 형광 염색, 항산균 배양, PCR등으로 이루어졌으나, 최근에는 침습성이 덜한 세침흡인검사가 흔히 이루어지고 있다.^{2,3,4)} 결핵성 림프절염의 세침흡인 검사의 현미경적 소견은 유상피세포, 다핵거대세포로 이루어진 육아종과 건락괴사를 특징으로 한다. 하지만 육아종은 유육종증, 진균성 감염, 톡소플라즈마증, 고양이 발톱병뿐 아니라 다양한 악성종양과 관련된 림프절에서 보일 수 있으므로 결핵으로 진단하기 위하여서는 항산균 염색, 형광 염색, 항산균 배양, PCR등의 추가적인 검사가 필요하다.

항산균 염색은 소요시간이 짧고 저렴한 장점이 있지만 많은 시간이 소요되는 고배율 현미경검색이 필요하며 검체에서 간균의 수가 검체 ml당 10,000-100,000개보다 적을 경우 가음성의 결과가 나올 수 있어 10-77%의 양성률이 세포검사서 보고되었다.⁵⁾

형광 염색은 민감도는 높지만 항산균 염색과 마찬가지로 많은 시간이 소요되는 고배율 현미경 검색이 필요하며, 가양성의 빈도가 높아 특이도가 낮고 괴사성 물질이 있는 경우 간균의 관찰이 어렵다.⁶⁾ 항산균 배양은 보다 나은 민감도와 특이도를 보이며, 항산균 동정이 가능하다는 장점이 있다. 하지만 소요시간이 4-8주 정도로 길며, 생존 간균이 남아있지 않은 괴사성 병변에서는 가음성이 나올 수 있다.⁷⁾ PCR은 다른 검사방법에 비하여 비교적 많은 비용이 들고 검사실 장비와 숙련된 검사자가 필요하다는 단점이 있지만 소요시간이 짧으며 민감도와 특이도가 높아 현재 널리 사용되고 있다.^{8,9)}

세침흡인검사와 관련한 PCR 검사에 관한 연구는 활발히 보고되어왔다. 하지만 이러한 연구에서 사용된 검체는 세침흡인 검사 중 PCR 검사를 위하여 별도로 준비된 검체로서 주사기나 주사침에 채취된 신선 검체를 사용하였다.^{10,11,12,13)} 본 연구에서는 슬라이드에 도말된 검체를 긁어내어 이용한 13례를 통상적인 방법인 신선 검체를 이용한 13례와 비교하였고, 전자의 경우 육아종 형성을 보인 5례 중 4례(80%)에서 nested PCR 양성 반응을 관찰할 수 있었으며, 후자의 경우 육아종 형성을 보인 8례 중 7례(87%)에서 nested PCR 양성 반응을 관찰할 수 있었다. 검체의 수가 적어 해석에 제한이 있기는하지만 슬라이드로 이미 도말되었던 검체와 PCR 검사를 위하여 따로 준비된 신선 검체의 양성율이 크게 차이가 나지 않는

것으로 보인다. 따라서 임상적으로 결핵이 고려되지 않았으나 육아종이 관찰되는 경우 또는 검체의 양이 많지 않아 PCR 검사를 위한 신선 검체를 따로 마련하지 못하였을 경우에 세침흡인검사의 검체로 세포진단 이외에 추가적인 PCR 검사를 시행할 수 있으므로 환자의 진단과 치료에 도움이 될 것으로 생각된다. 이러한 추가 검사는 특히 항산균 염색, 형광 염색, 항산균 배양 등의 다른 추가 검사를 시행하지 못하였거나 결과가 예상과 다른 경우, 그리고 비정형 마이코플라즈마의 가능성이 고려될 때 더욱 큰 도움이 될 것으로 기대된다.¹⁴⁾

육아종이 없이 괴사성 물질만으로 이루어진 5례 중 2례가 결핵으로 최종 진단되었고 그 중 1례는 nested PCR 양성 반응이었으나 다른 1례는 기관지세척액을 이용한 PCR 검사에서만 양성 반응이었다. 전이성 암종으로 인한 중앙괴사 1례를 제외하면 괴사성 물질로 이루어진 검체의 4례 중 2례(50%)가 결핵이었고 이러한 결과는 괴사성 물질로 이루어진 림프절 검체의 60% 또는 90%에서 결핵균 PCR 양성 반응을 얻은 이전 다른 보고보다는 낮은 수치이나 육아종형성이 관찰되지 않더라도 광범위한 괴사가 관찰될 때 결핵균 PCR 검사를 고려해 보는 것이 좋으리라 생각된다.^{8,10)}

결핵성 림프절염으로 최종 진단된 13례의 세포학적 모습은 육아종과 괴사가 동반된 5례(38%), 육아종이 의심되는 모습과 괴사가 동반된 1례(7%), 괴사를 동반하지 않은 육아종 6례(46%), 괴사성 물질만으로 이루어진 1례(7%)였다. 또한 괴사의 소견 중 중성구를 흔히 보이는 화농성 염증의 소견이 3례(23%)에서 관찰되었다. Ruma 등에 의하면 결핵성 림프절염의 세포학적 모습은 건락성 괴사를 동반한 육아종(28%), 건락성 괴사를 동반하지 않은 육아종(24%), 급성 화농성 병변(33%), 괴사성 물질만으로 이루어진 병변(15%)으로 보고하였으나 본 연구에서는 육아종이 좀 더 빈번하게 관찰되었다.⁷⁾ (그림 4)

PCR 검사는 이론적으로는 대상 간균이 2개만 있어도 발견이 가능하지만⁵⁾, 실제적인 특이도는 PCR 결과물을 확인하는 방법에 따라 달라질 수 있으며 PCR 검사의 가음성 요소로는 검체 채취과정의 오류, 낮은 세균의 양, 불충분한 DNA 추출, PCR억제요소의 존재 등이 고려될 수 있다.^{9,11,15)} 또한 이와 반대로 DNA 준비, 증폭, 검출 등의 검사실과 관련된 요소로 인하여 가양성 결과가 나올 수 있으므로 오염을 막을 수 있는 검사실 및 검사인력에 관한 관리와 함께, PCR 검사의 결과가 세포검사를 비롯한 다른 검사와 부합되지 않는 경우 추가적인 세침흡

인검사나 림프절 절제술 등이 고려되어질 수 있다.^{11,16,17)}

결 론

결핵성 림프절염의 진단을 위한 세침흡인검사에서 육아종이나 괴사의 소견이 관찰되면 추가적인 균동정이 필요하며 통상적으로는 추가적인 신선 검체를 가지고 nested PCR 검사를 시행한다. 하지만 검체의 양이 적거나 임상적으로 결핵이 고려되지 않아서 nested PCR 검사를 위한 검체가 따로 마련되지 못한 경우에도 슬라이드에 도말된 검체를 긁어내어 nested PCR 검사를 시행할 수 있어 환자의 진단 및 치료에 도움을 받을 수 있다.

참고문헌

- 1) Appling D Miller RH : Mycobacterial cervical lymphadenopathy 1981 update. *Laryngoscope* 91:1259-1266, 1981
- 2) Choi WS, Shin SY, Kim JO, Kim MS, Lee HK : Usefulness of automated PCR test for the detection of Mycobacterium tuberculosis in fresh biopsy tissues. *Tuberc Respir Dis* 61:54-59, 2006
- 3) Piersimoni C, Scaparo C : Relevance of commercial amplification methods for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in clinical samples. *J Clin Microbiol* 41:5355-65, 2003
- 4) Gupta AK, Yayar M, Chandra M : Critical appraisal of fine needle aspiration cytology in tuberculous lymphadenitis. *Acta Cytol* 36:391-394, 1992
- 5) Pao CC, Yen TS You JB, Maa JS, Fixx EH, Chang CH : Detection and identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA amplification. *J Clin Microbiol* 28:1877-1880, 1990
- 6) A. S Aljafari, E. A. G. Khalil, K. E. Elsiddig, I. A. El Hag, M. E. Ibrahim, M. E. M. O. Elsafi, A. M. Hussein, I. M. Elkhidir, G. S. Sulaiman, A. M. Elhassan : Diagnosis of tuberculous lymphadenitis by FNAC, microbiological Methods and PCR: a comparative study. *Cytopathology* 15:44-48, 2004
- 7) Ruma Pahwa, Suresh Hedau, Shyama Jain, Neeraj Jain, Vivek M. Arora, Neeta Kumar, Bhudev C. Das : Assessment of possible tuberculous lymphadenopathy by PCR compared to non-molecular methods. *J Med Microbiol* 54:873-878, 2005
- 8) Kim SS, Chung SM, Kim JN, Lee MA, Ha EH : Application of PCR from the Fine Needle Aspirates for the Diagnosis of Cervical Tuberculous. Lymphadenitis *J Kor Med Sci* 11(2):127-132, 1996
- 9) John D. Pfeifer : Molecular genetic testing in surgical pathology, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 427-430
- 10) Gong GY, Lee HK, Kang GH, Shim YH, Huh JY, Khang SK : Nested PCR for diagnosis of Tuberculous Lymphadenitis and PCR-SSCP for Identification of Rifampicin Resistance in Fine-Needle Aspirates. *Diagnostic Cytopathology* 26(4):228-231, 2002
- 11) Krishna K singh, M Muralidhar, Arvind Kumar, T K Chattopadhyaya, Kusum Kapila, Manoj K Singh, S K Sharma, N K Jain, Jaya S Tyagi : Comparison of in house polymerase chain reaction with conventional techniques for the detection of Mycobacterium tuberculosis DNA in granulomatous lymphadenopathy. *J Clin Pathol* 53:355-361, 2000
- 12) Goel MM, Ranjan V, Dhole TN, Srivastava AN, Mehrotra A, Kushwaha MR, Jain A : Polymerase chain reaction vs. conventional diagnosis in fine needle aspirates of tuberculous lymph nodes. *Acta Cytol* 45(3):333-340, 2001
- 13) Wright CA, van der Burg M, Geiger D, Noordzij JG, Burgess SM, Marais BJ. : Diagnosing mycobacterial lymphadenitis in children using fine needle aspiration biopsy: cytomorphology, ZN staining and autofluorescence -- making more of less. *Diagnostic Cytopathology* 36(4):245-251, 2008
- 14) Baek CH, Kim SI, Ko YH, Chu KC : Polymerase Chain Reaction Detection of Mycobacterium tuberculosis From Fine-Needle Aspirate for the Diagnosis of Cervical Tuberculous Lymphadenitis. *The Laryngoscope* 110:30-34, 2000
- 15) Clarridge JE, Shawar RM, Shinnick TM, Plikaytis BB : Large-scale use of polymerase chain reaction for detection of Mycobacterium tuberculosis in a routine mycobacteriology laboratory. *J Clin Microbiol* 31:2049-2056, 1993
- 16) Martin A, Heerranz M, Lirola MM, Fernandex RF, INDAL-TB group, Bouza E, Garcia de viedma D : Optimized molecular resolution of cross-contamination alerts in clinical mycobacteriology laboratories. *BMC Microbiol* 14(8), 2008
- 17) Tiwari RP, Hattikus NS, Bharmal RN, Kartikey S, Deshmukh NM, Bisen PS : Modern approaches to a rapid diagnosis of tuberculosis: promise and challenges ahead. *Tuberculosis* 87(3):193-201, 2007