Annals of Clinical Microbiology
www.acm.or.kr

Original article

Comparative evaluation of critical concentrations for detecting borderline rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*

Chang-Ki Kim[1], Hee Jae Huh[2], Jeong Su Park[3], Taesoung Kim[1], Jae Han Sohn[1]
[1]Department of Laboratory Medicine, Seoul Clinical Laboratories, Yongin, [2]Department of Laboratory Medicine and Genetics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, [3]Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea.

결핵균 리팜핀 경계성내성 검출을 위한 내성기준농도 비교 평가

김창기[1], 허희재[2], 박정수[3], 김태성[1], 손재한[1]
[1]서울의과학연구소 진단검사의학과, [2]삼성서울병원 진단검사의학과, [3]분당서울대학교병원 진단검사의학과

Check for updates

OPEN ACCESS

pISSN : 2288-0585
eISSN : 2288-6850

Ann Clin Microbiol 2023 December, 26(4): 139-145
https://doi.org/10.5145/ACM.2023.26.4.139

Corresponding author
Chang-Ki Kim
E-mail: psoas95@gmail.com

Received: December 04, 2023
Revised: December 18, 2023
Accepted: December 18, 2023

© 2023 Korean Society of Clinical Microbiology.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Background: Rifampin plays an important role in tuberculosis treatment. In recent years, the introduction of molecular testing techniques has enabled the rapid detection of rifampin resistance, leading to discrepancies with conventional methods. The World Health Organization (WHO) has analyzed mutations in the *rpoB* gene that induce rifampin resistance and identified certain mutations causing borderline resistance, which are often undetected using conventional tests. Consequently, the WHO has lowered the rifampin resistance criterion concentration from 1.0 to 0.5 μg/mL in 7H10 and MGIT 960. The present study aimed to evaluate the impact of this change in critical concentration on the detection of borderline rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*.

Methods: Tuberculosis strains submitted for antituberculosis drug susceptibility testing from May 2021–2022 were analyzed. Three institutions participated; the Seoul Clinical Laboratories used the agar proportion method, whereas the Samsung Medical Center and Seoul National University Bundang Hospital utilized the MGIT 960 system to test both the original and revised concentrations. Mutations were confirmed through *rpoB* gene sequencing for strains showing discrepancies.

Results: A total of 1,596 valid susceptibility tests were conducted during the study period. Rifampin resistance was detected in 35 cases (2.19%) at 1.0 μg/mL and in 38 cases (2.38%) at 0.5 μg/mL, whereas isoniazid resistance was observed in 158 cases (9.90%). Among the three rifampin discrepancy strains, one harbored an H445L mutation, whereas the remaining two exhibited an L452P mutation. These mutations were classified as borderline resistant.

Conclusion: Applying the new rifampin critical concentration resulted in a 0.19% increase in resistance rate and an 8.57% increase in detection cases. Additionally, despite testing with large number of rifampin-susceptible strains, no false resistance results were obtained. Therefore, the application of the new critical concentration is considered beneficial for the management of rifampin-resistant tuberculosis.

Keywords: Tuberculosis, Rifampin, Borderline resistance

Introduction

리팜핀은 결핵 초치료 약제이며, 가장 중요한 항결핵제 중 하나이다[1]. 리팜핀 내성은 *rpoB* 유전자 변이로 인해 유발되는데 변이가 *rpoB* 유전자의 81bp 길이의 특정 영역에서 주로 발생한다[2]. 따라서 내성연관 돌연변이를 검출하여 리팜핀 내성을 검출할 수 있는 분자기반 검사법들이 개발되었다[3]. 특히 Xpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA)는 결핵균 DNA와 리팜핀 내성을 동시에 검출할 수 있고 검사과정이 자동화되어 전세계적으로 사용이 크게 늘고 있다[3]. 최근에는 리팜핀 내성이 다제내성결핵의 대리지표(surrogate marker)로 이용되고 있다[4]. 그러나 분자 검사기법의 도입으로 리팜핀 신속내성검출이 가능해지면서 기존 감수성검사법과의 결과 불일치가 발생하여 환자관리에 혼선을 주고 있다[5–7]. 세계보건기구에서는 리팜핀 내성을 유발하는 *rpoB* 유전자의 변이를 분석하였고, 경계성 내성(borderline resistance)을 유발하는 일부 변이가 통상 감수성검사에서 검출되지 않는 문제가 확인되었다[2]. 따라서 세계보건기구에서는 리핌핀 경계성 내성 검출률을 높이기 위해 Middlebrook 7H10과 BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)에 대한 리팜핀 내성기준농도를 1.0 μg/mL에서 0.5 μg/mL로 낮추었다[2]. 본 연구에서는 리팜핀 내성기준농도 변경이 경계성 내성 검출에 미치는 영향을 평가하고자 하였다.

Materials and methods

2021년 5월부터 2022년 5월까지 서울의과학연구소, 삼성서울병원, 그리고 분당서울대병원에서 시행한 항결핵제 감수성검사 결과를 조사하였다. 서울의과학연구소는 Middlebrook 7H10 한천비율법을, 삼성서울병원과 분당서울대병원은 BACTEC MGIT 960 (MGIT) (Becton Dickinson)을 이용하여 감수성검사를 시행하였고, 기존 리팜핀 내성기준농도(1.0 μg/mL)에 새로 변경된 내성기준농도(0.5 μg/mL)을 추가하여 감수성검사를 시험하였다. 이소니아지드 내성기준농도는 한천비율법의 경우 0.2 μg/mL를 MGIT의 경우 0.1 μg/mL을 이용하였다. 리팜핀 감수성 불일치 균주에 대해 *rpoB* 유전자 염기서열분석을 시행하여 변이를 확인하였다. 균주를 McFarland 0.5 농도의 현탁액을 만든 후 boiling method를 통해서 DNA를 추출하였다. *rpoB* 유전자 증폭과 염기서열분석을 위해서 한 쌍의 primer (RSF: 5′-GATGACCACCCAGGACGTGGAG-3′, RSR: 5′-TCGATCGGCGAATTGGCCTGTG-3′)를 사용하였다[8]. Polymerase chain reaction (PCR)은 AccuPower Taq PCR Premix (Bioneer, Daejeon, Korea)에 10 pmol씩의 primer, 10 ng의 DNA를 넣어 총 20 μL로 만든 후, GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하여 98°C에서 30초간 변성시킨 후 98°C 10초, 66°C 25초, 72°C 30초를 35회 반복하고 72°C에서 2분간 반응시켰다. PCR 증폭산물의 크기는 438 bp이었고, 1% 아가로오스겔로 전기영동하여 Gel Doc system (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)으로 이미지를 판독하였다. 염기서열은 H37Rv 표준균주의 염기서열과 비교하여 *rpoB* 유전자의 변이를 확인하였다.

Results

연구기간 동안 시행한 감수성검사 중복을 제외하고 1,596건(서울의과학연구소: 1,269, 삼성서울병원: 177, 분당서울대병원: 150)의 유효한 감수성결과를 확인하였다(Table 1). 리팜핀 내성은

1.0 μg/mL에서 35건(2.19%), 0.5 μg/mL에서 38건(2.38%)에서 검출되었고, 이소니아지드 내성은 158건(9.90%)이었다. 리팜핀 불일치 균주는 3건이었는데 모두 한천배지비율법으로 검사한 서울의과학연구소에서 검출되었다. MGIT로 검사한 두 기관에서는 불일치 균주가 발견되지 않았다. 불일치균주에 대한 *rpoB* 유전자 염기서열분석을 통해 H445L (H526L) 변이가 한 건, 나머지 2건에서는 L452P (L533P) 변이가 확인되었으며, 해당변이는 모두 경계성 내성 변이로 분류되었다(Table 2). 불일치 균주 3건 중 2건에서 이소니아지드 내성이 확인되었고 리파부틴에도 내성이었다. 나머지 한 건의 경우 이소니아지드에는 감수성이었으나 fluoroquilonone 약제인 ofloxacin, levofloxacin, 그리고 moxifloxacin에 모두 내성이었고 그 외 약제에 대한 내성은 검출되지 않았다.

Table 1. DST results from three institutes

Drugs (CCs)	SMC		SNUBH		SCL		Total	
	S	R	S	R	S	R	S	R
RIF (0.5 μg/mL)	172	5	148	2	1,238	31	1,558	38
RIF (1.0 μg/mL)	172	5	148	2	1,241	28	1,561	35
INH (0.1/0.2 μg/mL)	154	23	139	11	1,145	124	1,438	158

Abbreviations: DST, drug susceptibility testing; CCs, critical concentrations; SMC, Samsung Medical Center; SNUBH, Seoul National University Bundang Hospital; SCL, Seoul Clinical Laboratories; RIF, rifampin; INH, isoniazid; S, susceptible; R, resistant.

Table 2. Conventional DST results and *rpoB* gene sequencing data of three rifampin resistant isolates with new critical concentration

Patient No.	Date	*rpoB* gene Sequencing (*E. coli* numbering)	Conventional DST results of anti-TB drugs (CC [μg/mL])														
			INH (0.2)	INH (1.0)	SM (2.0)	EMB (5.0)	ETH (5.0)	CAP (10.0)	KM (5.0)	AMK (4.0)	OFL (2.0)	LEV (1.0)	MOX (0.5)	PAS (2.0)	RBT (0.5)	LIN (1.0)	PZA
1	2021-06-02	H445L (H526L)	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S
2	2021-11-09	L452P (L533P)	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
3	2021-12-16	L452P (L533P)	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S

Abbreviations: DST, drug susceptibility testing; TB, tuberculosis; CC, critical concentration; INH, isoniazid; SM, streptomycin; EMB, ethambutol; ETH, ethionamide; CAP, capreomycin; KM, kanamycin; AMK, amikacin; OFL, ofloxacin; LEV, levofloxacin; MOX, moxifloxacin; PAS, para-aminosalicylic acid; RBT, rifabutin; LIN, linezolid; PZA, pyrazinamide; S, susceptible; R, resistant.

Discussion

결핵은 전세계적인 보건문제이며, 매년 천만명이 넘는 결핵환자가 새롭게 발생하고 있다[4]. 내성결핵의 확산은 결핵퇴치의 가장 큰 걸림돌 중 하나이다. 내성결핵을 효과적으로 관리하기 위해서는 신속하고 정확한 내성진단법 도입이 매우 중요하다[2,3]. 신속분자검사는 통상 감수성검사에 비해 신속하고 객관적이며 민감도가 높아 임상검체로도 검사가 가능한 장점이 있다[1,2]. 생물안전 측면에서도 분자검사법이 기존 검사법에 비해 훨씬 안전하다[9]. 이러한 이유로 다제내성 혹은 리팜핀 내성을 검출하는 다양한 신속분자검사법들이 개발되었다[3]. 특히 Xpert MTB/RIF는 자동화된 분자검사법으로 간단한 작업만으로도 검사가 가능한데 세계보건기구로부터 endorsement를 받게 되면서 그 사용이 크게 늘었고 현재 표준진단법으로 이용되고 있다[3,10]. Xpert MTB/RIF는 결핵균과 리팜핀 내성을 동시에 검출하게 되는데 도입 초기 리팜핀 위내성 결과에 대한 우려가 높았다[11]. 리팜핀 내성 발생 가능성이 높은 환자군을 대상으로 하면 위내성 가능성은 낮지만

일반적인 결핵 의심환자를 대상으로 할 경우 위내성 비율이 높아질 수 있다고 판단하였다. 따라서 초기 세계보건기구 지침에서는 내성 가능성이 낮은 환자군에서 Xpert MTB/RIF를 시행할 경우 리팜핀이 내성이면 새로운 검체로 재검사하라고 권고하였다[11]. 실제로 통상 감수성검사와 Xpert MTB/RIF 간의 결과 불일치가 확인되었는데 특히 Xpert MTB/RIF 위내성이 대부분을 차지하였다[6,11]. 유전자 분석에서 이런 불일치를 유발하는 특정 유전자 변이가 확인되었다[7,12-14]. 이들 변이는 disputed mutation, 저도내성변이 등으로 불리었는데 해당 변이를 가진 균주는 리팜핀 최소억제농도가 감수성이 균주에 비해서는 높았으나 내성기준농도에 근접하거나 낮은 경우가 많았다[5,14,15]. 이는 *rpoB* 유전자 변이에 따라 리팜핀 내성 정도가 다르기 때문인데 Xpert MTB/RIF의 경우 변이 종류를 확인할 수 없어 리팜핀 불일치 결과해석에 어려움이 있었다[14,16,17]. 이후 연구를 통해 Xpert MTB/RIF에서만 리팜핀 내성인 환자들의 치료 경과를 확인하였는데 초치료 약제에 대한 치료 성공률이 대부분 낮았다[18].

통상 감수성검사와 분자 감수성검사의 불일치를 줄이고 경계성 내성 결핵 검출을 향상시키기 위해서 리팜핀 내성기준농도 변경에 대한 필요성이 높아졌다[14]. 세계보건기구에서는 항결핵제 내성기준농도를 개정하기 위해 체계적으로 자료를 수집하여 분석하였다. 오래전에 설정된 기준농도를 근거에 따라 대거 수정하였으며 곧이어 리파마이신 계열 약제와 이소니아지드 내성기준농도 변경을 위한 전문가 자문단을 구성하였다. 자문단에서는 리팜핀 감수성검사 불일치를 흔히 유발하는 *rpoB* 유전자 돌연변이를 경계성 내성으로 정의하였고 7개 변이(H445L (H526L), D435Y (D516Y), L452P (L533P), L430P (L511P), H445N (H526N), I491F (I572F), H445S (H526S))가 여기에 속한다[2]. 이들 돌연변이를 가진 균주는 임상적으로 리팜핀 내성으로 판단하여 다제내성결핵 치료를 시행하도록 권고하고 있다[2,3]. 따라서 전문가 자문단에서는 경계성 내성 변이를 가진 균주를 검출하기 위해서 7H10과 MGIT에 대한 리팜핀 내성기준농도를 1.0 ug/mL에서 0.5 ug/mL로 낮추었다[2]. 나머지 LJ 배지와 7H11 배지에 대해서는 수집된 최소억제농도 정보가 불충분하여 기준농도를 변경하지 않았다.

본 연구에서는 새로운 리팜핀 내성기준농도를 적용하여 리팜핀 내성균주를 3건 추가로 검출할 수 있었다. 이들 균주는 모두 경계성 내성 돌연변이를 가진 것으로 확인되었고, 리팜핀 이외의 항결핵제 내성이 확인되어 리팜핀 내성으로 결론지었다. 전체 리팜핀 내성률은 0.19% 증가하였으나, 리팜핀 내성건수는 8.57%가 증가하는 효과를 볼 수 있었으며 위내성 결과는 없었다. 특이한 점은 새로운 내성기준농도를 적용하였을 때 한천배지비율법을 시행한 기관에서만 경계성 내성 균주가 검출되었고 MGIT을 시행하는 기관에서는 검출되지 않았다. 한천배지비율법을 이용하는 서울의과학연구소의 검사건수가 MGIT을 이용한 기관보다 월등히 많았기 때문일 수 있다. 그러나 감수성검사법간 차이가 원인일 수도 있다. 기존 내성기준농도를 적용할 경우 LJ 비율법에 비해 MGIT 감수성검사에서 리팜핀 경계성 내성 검출률이 유의하게 낮은 것으로 알려져 있다[19,20]. 따라서 내성기준농도를 1.0 μg/mL에서 0.5 μg/mL로 낮추어도 다른 감수성검사법에 비해 MGIT의 경계성 내성 검출률 향상이 크지 않을 수 있다. Yu 등의 연구[21]에 따르면 변경된 MGIT 내성기준농도로 시험하였을 때 경계성 내성 검출률이 43.8%로 낮았으며, 기존 내성기준농도의 검출률(37.5%)과 큰 차이가 없었다. MGIT의 경계성 내성 변이 검출률을 높이기 위해서 내성기준농도를 더 낮추는 방법과 배양시간을 연장하는 방법을 고려할 필요가 있다.

이번 연구에서 모든 대상 균주에 대해 *rpoB* 유전자 염기서열을 분석하지 않아서 기존 내성기준농도와 새로운 내성기준농도의 민감도를 정확하게 평가할 수 없었다. 그러나 새로운 내성기준농도를 적용하였을 때 경계성 내성 균주를 추가로 검출하였고, 리팜핀 감수성인 균주 약 1,500건 중에서 위내성 결과는 한 건도 발견되지 않았다. 따라서 세계보건기구의 변경된 리팜핀 내성기준농도를 적용하는 것은 경계성 내성 결핵을 검출하는데 유용할 것으로 판단된다.

요약

배경: 결핵 치료에서 리팜핀 중요성은 매우 크다. 최근 분자 검사기법의 도입으로 리팜핀 신속 내성검출이 가능해지면서 기존 감수성검사법과의 결과 불일치가 환자관리에 혼선을 주고 있다. 세계보건기구에서는 리팜핀 내성을 유발하는 *rpoB* 유전자의 변이를 분석하였고, 경계성 내성(borderline resistance)을 유발하는 일부 변이가 통상 감수성검사에서 검출되지 않는 문제가 확인되었다. 따라서 세계보건기구에서는 Middlebrook 7H10과 BACTEC MGIT에 대한 리팜핀 내성기준농도를 1.0 μg/mL에서 0.5 μg/mL로 낮추었다. 본 연구에서는 내성기준농도 변경이 리팜핀 내성 검출에 대해 미치는 영향을 평가하고자 하였다.

방법: 2021년 5월부터 2022년 5월까지 항결핵제 감수성검사가 의뢰된 균주를 대상으로 하였다. 총 3기관이 참여하였으며 서울의과학연구소는 한천비율법을, 삼성서울병원과 분당서울대병원은 BACTEC MGIT 960을 이용하여 기존 농도와 변경된 농도에 대해 모두 시험하였다. 불일치를 보이는 균주에 대해 *rpoB* 유전자 염기서열분석을 시행하여 변이를 확인하였다.

결과: 5연구기간 동안 시행한 감수성검사 중 1,596건(서울의과학연구소: 1,269, 삼성서울병원: 177, 분당서울대병원: 150)의 유효한 결과를 확인하였다. 리팜핀 내성은 1.0 μg/mL에서 35건(2.19%), 0.5 μg/mL에서 38건(2.38%)에서 검출되었고, 이소니아지드 내성은 158건(9.90%)이었다. 리팜핀 불일치 균주 3건 중 *rpoB* 유전자 염기서열분석을 통해 H445L 변이가 한 건, 나머지 2건에서는 L452P 변이가 확인되었다. 해당변이는 모두 경계성 내성 변이로 분류된다.

결론: 새로 변경된 리팜핀 내성기준농도를 적용할 경우 리팜핀 내성률은 0.19%, 검출건수는 8.57% 증가하였다. 또한 다수의 리팜핀 감수성 균주로 평가하였음에도 위내성 결과는 발생하지 않았다. 따라서 새로운 내성기준농도를 적용할 경우 내성결핵 관리에 유용할 것으로 판단된다.

Ethics statement

It is not a human population study; therefore, approval by the institutional review board or the obtainment of informed consent is not required.

Conflicts of interest

No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

Funding

This study was conducted with support from the Korea Disease Control and Prevention Agency.

References

1. WHO. WHO operational handbook on tuberculosis Module 4: Treatment – drug-susceptible tuberculosis treatment. Geneva; World Health Organization, 2022.
2. WHO. Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine). Geneva; World Health Organization, 2021.
3. WHO. WHO consolidated guidelines on tuberculosis Module 3: Diagnosis - tests for tuberculosis infection. Geneva; World Health Organization, 2022.
4. WHO. Global tuberculosis report 2022. Geneva; World Health Organization, 2022.
5. Gurbanova E, Mehdiyev R, Blondal K, Tahirli R, Mirzayev F, Hillemann D, et al. Mitigation of discordant rifampicin-susceptibility results obtained by Xpert *Mycobacterium tuberculosis*/rifampicin and mycobacterium growth indicator tube. Microb Drug Resist 2017;23:1045–52.
6. Mokaddas E, Ahmad S, Eldeen HS, Al-Mutairi N. Discordance between Xpert MTB/RIF assay and Bactec MGIT 960 culture system for detection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in a country with a low tuberculosis (TB) incidence. J Clin Microbiol 2015;53:1351–4.
7. Miotto P, Cabibbe AM, Borroni E, Degano M, Cirillo DM. Role of disputed mutations in the rpoB gene in interpretation of automated liquid MGIT culture results for rifampin susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 2018;56:e01599-17.
8. Sinha P, Srivastava GN, Tripathi R, Mishra MN, Anupurba S. Detection of mutations in the rpoB gene of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains inhibiting wild type probe hybridization in the MTBDR plus assay by DNA sequencing directly from clinical specimens. BMC Microbiol 2020;20:284.
9. WHO. Tuberculosis laboratory biosafety manual. Geneva; World Health Organization, 2018.
10. WHO. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: diagnosis - rapid diagnostics for tuberculosis detention, 2021 update. Geneva; World Health Organization, 2021.
11. WHO. Xpert MTB/RIF implementation manual: technical and operational ‘how-to’; practical considerations. Geneva; World Health Organization, 2014.
12. Al-Mutairi NM, Ahmad S, Mokaddas E, Eldeen HS, Joseph S. Occurrence of disputed rpoB mutations among *Mycobacterium tuberculosis* isolates phenotypically susceptible to rifampicin in a country with a low incidence of multidrug-resistant tuberculosis. BMC Infect Dis 2019;19:3.
13. Van Deun A, Aung KJM, Hossain A, De Rijk P, Gumusboga M, Rigouts L, et al. Disputed *rpoB* mutations can frequently cause important rifampicin resistance among new tuberculosis patients. Int J Tuberc Lung Dis 2015;19:185–90.
14. Ocheretina O, Escuyer VE, Mabou MM, Royal-Mardi G, Collins S, Vilbrun SC, et al. Correlation between genotypic and phenotypic testing for resistance to rifampin in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates in Haiti: investigation of cases with discrepant susceptibility results. PLoS One 2014;9:e90569.
15. Van Ingen J, Aarnoutse R, De Vries G, Boeree MJ, Van Soolingen D. Low-level rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains raise a new therapeutic challenge. Int J Tuberc Lung Dis 2011;15:990–2.

16. Jamieson FB, Guthrie JL, Neemuchwala A, Lastovetska O, Melano RG, Mehaffy C. Profiling of *rpoB* mutations and MICs for rifampin and rifabutin in *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 2014;52:2157–62.
17. Van Deun A, Aung KJM, Bola V, Lebeke R, Hossain MA, De Rijk WB, et al. Rifampin drug resistance tests for tuberculosis: challenging the gold standard. J Clin Microbiol 2013;51:2633–40.
18. Van Deun A, Decroo T, Aung KJM, Hossain MA, Gumusboga M, De Rijk WB, et al. *Mycobacterium tuberculosis* borderline rpoB mutations: emerging from the unknown. Eur Respir J 2021;58:2100783.
19. Gonzalo X, Claxton P, Brown T, Montgomery L, Fitzgibbon M, Laurenson I, et al. True rifampicin resistance missed by the MGIT: prevalence of this pheno/genotype in the UK and Ireland after 18 month surveillance. Clin Microbiol Infect 2017;23:260–3.
20. Van Deun A, Barrera L, Bastian I, Fattorini L, Hoffmann H, Kam KM, et al. *Mycobacterium tuberculosis* strains with highly discordant rifampin susceptibility test results. J Clin Microbiol 2009;47:3501–6.
21. Yu HJ, Kim TY, Kim G, Shim HJ, Kang OK, Kim S, et al. Performance evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for rifampin drug-susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* using the current WHO critical concentration. J Clin Microbiol 2023;61:e01086-22.