

## ANALISIS MOLEKULER MDR TB DENGAN TEKNIK SEKUENSING DARI SAMPEL DAHAK SUSPEK TB DI NUSA TENGGARA BARAT

Edy Kurniawan, Maruni Wiwin Diarti, Santy Pristianingrum

**Abstract: Background:** Tuberculosis is one of the tropical diseases that are still of concern to the world , especially with the increasing number of developing multidrug- resistant TB variants. In this study we indentified nucleotide sequence MDR-Tb resistant rifampicin, etambhutol dan isoniazid from patient sputum who have suspect tuberculosis infection in West Nusa Tenggara. **Methods:** This analyze with PCR, sequencing and analysis using Blast Basic Local Alignment Search Tool) from NCBI (National Centre of Biotechnology Information). **Result :** Twelve samples has been obtained in this study, 9 is positive PCR with TB primer and all of them is still sensitive with rifampicin, etambuthol and isoniazid. Ten sequence sensitive from rpoB, emB and katG has sequencing and Blast analysis, sequence rpoB from TB 5 and TB 6 have similarity with sequence strain M.tb CCDC5079 and TB8 and TB 9 with sequence strain M.tb 96121. emB sequence from sample TB8 and TB9 have similarity with M.tb subsp.tuberculosis partial embB putative arabinosyltransferase mutan 240 exon 1; and TB9 with M.tb strain 2a putative arabinosyltransferase. Sequence from katG from TB8,TB9,TB10 have similarity with M.tb strain 96075. **Conclusion:** MDR-Tb is not found in the studies, with Blast analysis we concluded the *Mycobacterium tuberculosis* sensitive tuberculosis drugs sequence from sample study have similarity with M.tb Beijing dan manila Family.

**Kata Kunci :** Anti Tuberculosis drug, MDR-Tb, PCR, Sequencing.

### PENDAHULUAN

Resistensi ganda kuman *Mycobacterium tuberculosis* terhadap sedikitnya dua jenis obat anti tuberculosis yaitu isoniazid dan rifampicin (MDR TB) telah banyak ditemukan di beberapa negara termasuk di Indonesia. Hal tersebut perlu dipelajari untuk menjadi kontrol efektifitas penggunaan obat anti tuberculosis dan keberhasilan penanganan TB, mengingat rifampicin dan isoniazid adalah obat yang sangat penting dalam penerapan strategi DOTS (*directly observed therapy*). Angka kejadian MDR-TB akan meningkat apabila program pengendalian Tb kurang optimal.<sup>1</sup>

Program kontrol pengobatan tuberculosis ini terkendala akibat merebaknya TB yang bersifat resisten terhadap obat anti tuberculosis (OAT),

terutama *multidrug-resistance tuberculosis* yang didefinisikan sebagai resisten paling tidak terhadap isoniazid dan rifampisin. Kekebalan obat ganda ini dalam pengobatan tuberculosis (TB) menjadi masalah masyarakat di sejumlah negara dan merupakan hambatan terhadap program pengendalian TB secara global. Kekebalan kuman TB terhadap obat anti tuberculosis (OAT) sebenarnya telah muncul sejak lama. WHO pada tahun 2005 melaporkan di dunia lebih dari 400.000 kasus TB –MDR terjadi setiap tahunnya sebagai akibat kurang baiknya penanganan dasar kasus TB dan transmisi strain – strain kuman yang resisten obat anti TB. TB-MDR muncul akibat akumulasi mutasi penyebab resistensi pada satu obat atau akuisisi unsur – unsur MDR. Menurut WHO, saat ini Indonesia menduduki peringkat ke delapan kasus TB

– MDR dari 27 negara. Data awal survei resistensi obat OAT lini pertama yang dilakukan di Jawa Tengah pada tahun 2006 menunjukkan angka TB-MDR pada kasus baru yaitu 2,07%, angka ini meningkat pada pasien yang pernah diobati sebelumnya yaitu 16,3%.<sup>14</sup>

Survei WHO lebih dari 90.000 pasien di 81 negara memiliki angka MDR-TB lebih tinggi dari perkiraan. Enam negara dengan angka kekerapan tinggi MDR-TB adalah Estonia, Kazakhstan, Latvia, Lithuania, bagian dari federasi Rusia dan Uzbekistan. WHO memperkirakan 300.000 kasus MDR-TB baru pertahun. Obat Anti Tuberkulosis (AOT) yang resisten terhadap kuman Tuberkulosis akan semakin banyak, saat ini 79% dari MDR-TB adalah super strains yang resisten paling sedikit 3 atau 4 obat antituberkulosis.<sup>2</sup> Laporan WHO lain juga menyebutkan tentang estimasi kasus sebesar 6,427 pasien baru dengan SS+ MDRTB pada tahun 2007, atau sekitar 2 persen dari keseluruhan kasus baru, dimana 20 persen kasus MDR-TB diprediksi akan teridentifikasi pada kasus terapi ulang (*retreated cases*) disadur dari USAID Overview 2009 dalam Lisdawati et.al.(Study pemetaan awal DNA).<sup>3</sup>

Program kontrol pengobatan tuberculosis yang dikenal dengan program DOTS (*Directly Observed Treatment Shortcourse Chemotherapy*) di terapkan sebagai strategi kontrol terhadap tuberculosis yang diberlakukan di semua negara terutama negara – negara yang termasuk dalam kelompok *high burden countries* termasuk Indonesia. Program kontrol pengobatan tuberculosis ini terkendala akibat merebaknya TB yang bersifat resisten terhadap obat anti tuberculosis (OAT),

terutama *multidrug-resistance tuberculosis* yang didefinisikan sebagai resisten paling tidak terhadap isoniazid dan rifampisin. Konfirmasi resistensi obat TB terus sangat perlu dilakukan pada setiap daerah mengingat adanya variasi fenotipe dan genotipe dari *Mycobacterium tuberculosis* disetiap wilayah melalui uji laboratorium seperti uji biologi molekuler.

Penentuan genotype dalam kasus MDR-TB memegang peran yang sangat penting dalam merunut sumber infeksi dan rantai penularan, jika di teliti lebih lanjut akan dapat di ketahui adanya perubahan susunan gen atau mutasi dan delesi ataupun kejadian lain yang berhubungan dengan perubahan struktur genetik dari kuman *Mycobacterium tuberculosis*. Perubahan genetik ini akan dapat mempengaruhi penatalaksanaan pengobatan pada kasus-kasus TB hingga muncul salah satunya MDR-TB.<sup>4</sup>

Hasil penelitian Zacharia dkk (2013) mengenai pola resistensi MDR-Tb di Kabupaten Lombok Timur, ditemukan satu buah sampel dahak dari pasien suspek TB paru kasus baru yang mengalami resistensi terhadap Rifampisin dan isoniazid.<sup>5</sup> Sedangkan menurut penelitian yang dilakukan Thalib dkk (2010) di kota Mataram diketahui bahwa telah terjadi resistensi terhadap rifampicin sebanyak 23,53%, etambutol 29,4%, dan isoniazid 35,3%. Sebanyak 5 isolat (29,4%) dapat dikategorikan sebagai isolat *M. tuberculosis* MDR (*multi drug resistant*) dari 17 sampel dahak.<sup>6</sup> Keberadaan MDR-Tb sangat menarik untuk ditelusuri, karena disamping penanganannya sudah memiliki standar secara internasional varian-varian spesies baru telah banyak muncul dibenua-benua yang ada di dunia, dan apakah mungkin varian-

varian tersebut memiliki jenis yang sama dengan yang ada di Indonesia. Untuk mengetahui hal tersebut perlu dilakukan suatu penelitian mengenai susunan basa DNA dari varian-varian MDR-Tb. Konfirmasi resistensi obat TB sangat perlu dilakukan pada setiap daerah mengingat adanya variasi fenotip dan genotipe dari *Mycobacterium tuberculosis* disetiap wilayah melalui uji laboratorium seperti uji biologi molekuler. Perkembangan teknik biologi molekuler khususnya metode PCR dan *Squencing* yang memungkinkan cara baru untuk mendeteksi adanya resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap OAT. Tujuan dari penelitian ini adalah menemukan susunan DNA dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten OAT golongan rifampicin, isoniazid, dan etambutol dari

sampel dahak di Nusa Tenggara Barat sehingga hasilnya akan dapat dimanfaatkan dalam upaya pemetaan jenis-jenis varian bakteri MDR-Tb yang ada di Indonesia.

**METODE**

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratorik di laboratorium yang menggali bentuk pemetaan DNA gen *rpoB*, *emB* dan *katG* dari pasien suspek TB dengan menggunakan tehnik analisis molekuler PCR dan *Squencing* pada sampel dahak beberapa suspek Tb paru. Analisis molekuler ini menggunakan primer isoniazid (*katG*), etambutol (*emB*) dan rifampisin (*rpoB*) dengan susunan basa seperti tertera di bawah ini :

**Tabel 1. Susunan Primer yang digunakan dalam penelitian**

No	Nama Primer – Susunan Basa	Panjang Produk (bp)	Referensi
1	TB1 5'-TACTACGACCACATCAACCG TB2 5'-GGGCTGTGGCCGATCAGCG	390	Young (1994)
2	<i>emB</i> 2F 5'-CTGAAACTGCTGGCGATCAT <i>emB</i> 2R 5'-CAGGCGCATCCACAGACT	408	Wada et al (2004)
3	<i>katG</i> 2F 5'-GAGCCCGATGAGGTCTATTG <i>katG</i> 2R 5'-CTCTTCGTCAGCTCCCCTC	464	
4	<i>rpoB</i> 1F 5'-ACACCGCAGACGTTGATCA <i>rpoB</i> 1R 5'-CTAGTGATGGCGGTCAGGTAC	363	

Sampel yang hasil PCR-nya positif menggunakan primer Tb akan dilanjutkan pemeriksaan dengan primer *katG*, *emB* dan *rpoB*. Hasil positif dengan primer TB menunjukkan bahwa sampel tersebut positif mengandung kuman Mtb, dan jika hasil PCR dengan primer *katG*, *emB* dan *rpoB* positif menunjukkan bahwa bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) dalam sampel tersebut masih sensitive terhadap isoniazid, etambutol dan rifampisin. Hasil negatif pada pemeriksaan dengan

primer *katG*, *emB* dan *rpoB* dianggap mengalami resistensi terhadap tiga jenis OAT di atas. Pemeriksaan selanjutnya adalah sekuensing yang bertujuan untuk mengetahui susunan nukleotida DNA dari bakteri MTb yang terdeteksi resisten dan untuk mengetahui kekerabatan dengan bakteri Mtb. Dengan menggunakan program BLAST dari NCBI.

**Cara kerja :**

Sampel penelitian berupa dahak dari penderita suspek Tb di ekstraksi dengan menggunakan metode trizol, hasil ekstraksi disebut produk ekstraksi merupakan template DNA bakteri Tb yang akan di amplifikasi dengan metode PCR. PCR yang dilakukan menggunakan masing – masing primer, karena produk hasil PCR akan digunakan untuk bahan analisa selanjutnya yaitu Squencing. Dilakukan amplifikasi hasil ekstraksi DNA terdiri dari: fastard mix PCR 25 ul, primer 1,0 µM (*Forward Primer* dan *Reverse Primer*) 1.0 µl , aquabidest 12 ul, dan 5 ul templet 0,1 ug dihomogenkan. Untuk kontrol positif (+), *DNA template* sampel diganti dengan DNA isolat *M. tuberculosis* dan kontrol negatif (-) menggunakan *aquabidest* steril. Pencampuran bahan – bahan tersebut dilakukan pada *ependrof* 200 ml dalam *box* pendingin supaya DNA dan enzim yang digunakan tidak rusak. Campuran tersebut diatas, kemudian di *spin down* dan selanjutnya di masukkan dalam mesin *PCR thermal cycler* untuk amplifikasi dengan kondisi :

Hotstart	: 94 <sup>0</sup> C, 4 menit	1x
Denaturasi	: 94 <sup>0</sup> C, 1 menit	} 38 x
Annealing	: 60 <sup>0</sup> C, 1 menit	
Elongasi	: 72 <sup>0</sup> C, 1 menit	
Elongasi post PCR	: 72 <sup>0</sup> C, 4 menit	

Hasil amplifikasi kemudian di elektroforesis dalam gel yang terbuat dari agarose 0,8 gr, dilarutkan dalam 40 ml larutan TBE (*Tris Borate EDTA*)1X. Gel diletakkan dalam bak elektroforesis dan dialiri arus listrik 100 volt selama 40 menit. Selanjutnya

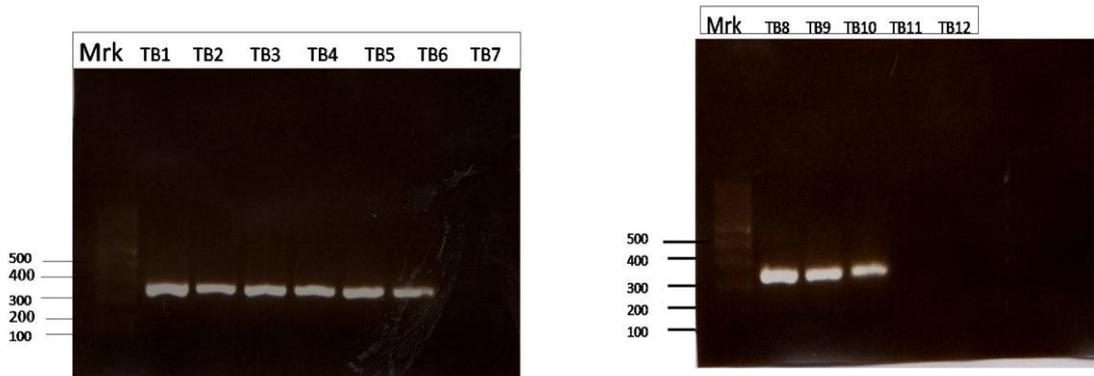
hasil elektroforesis di baca dengan alat visualisasi *Bio-rad GEL DOC XR* tipe 170 – 8170. Jika hasil PCR menggunakan primer Tb hasilnya menunjukkan pita pada rentang 390 bp maka produk ekstraksinya masing – masing di PCR dengan primer *emB*, *katG* dan *rpoB*. Produk PCR setelah dianalisa, kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan sekuensing yang dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang. Hasil sekuensing akan di interpretasikan dengan menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) dari NCBI (*National Centre of Biotechnology Information*).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Sampel dahak dari pasien suspek TB yang didapatkan dalam penelitian ini sebanyak 12 sampel (tabel 1.), sebelas diantaranya berasal dari Kabupaten Lombok timur dan satu sampel berasal dari RSUP NTB. Hasil PCR menggunakan primer Tb diketahui bahwa Sembilan sampel positif mengandung kuman *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb). Hasil visualisasi menggunakan GEL DOC di ketahui bahwa sampel yang positif dengan primer TB menunjukkan pita pada rentang 390 bp (Gambar 1). Pemeriksaan selanjutnya adalah penentuan sensitivitas obat rifampisin, etambutol dan isoniazid terhadap sembilan sampel positif M.tb, dengan menggunakan tiga pasang primer yaitu *rpoB*, *emB* dan *katG*. Pemilihan tiga pasang primer tersebut didasarkan pada studi analisis molekuler yang menunjukkan bahwa resistensi terhadap obat rifampisin 98% lebih disebabkan adanya mutasi pada core region dari gen *rpoB*. Sedangkan resistensi terhadap isoniazid

disebabkan adanya mutasi pada beberapa gen misalnya *katG*, *inhA*, *oxyR*, dan *ahpC* dimana *katG* sendiri mempunyai proporsi sekitar 60% . Mutasi kodon 306 pada daerah *emBB* merupakan 70% dari kelompok *Mycobacterium tuberculosis* resisten

etambutol. Dengan demikian analisis terhadap region *rpoB*, *emBB* dan *katG* diharapkan dapat mendeteksi sebagian besar sifat resisten dari isolat *M. tuberculosis*.



**Gambar 1. Hasil Analisis PCR dengan primer TB menunjukkan adanya *Mycobacterium tuberculosis* pada sampel**

Hasil Positif pada PCR pertama menggunakan primer Tb1 dan Tb2 dilanjutkan PCR kedua dengan menggunakan masing – masing primer *rpoB*, *emB* dan *katG*. Pada Gambar 1. dan Tabel 2. dapat dilihat bahwa Sembilan sampel hasilnya positif, menandakan bahwa bakteri *M.tb* yang terdapat dalam sampel yang diperiksa masih sensitif dengan obat rifampicin, etambutol dan isoniazid. Atau dapat diartikan pula bahwa di dalam sampel tersebut belum terjadi mutasi yang mengarah pada sifat resistensi. Karena tidak ditemukan tanda-tanda

resistensi pada sampel yang diperiksa dari hasil PCR kedua, maka pemeriksaan sekuensing dilakukan untuk mengetahui keidentikan sekuen dari sampel yang masih sensitive etambutol, rifampisin dan isoniazid yaitu sampel dengan kode RpoB5, RpoB6, RpoB8, RpoB9, RpoB10, EmB8, EmB9, EmB10, KatG8, KatG9, KatG10 dengan sekuen-sekuen koleksi NCBI (*National Centre of Biotechnology Information*), dengan menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

Tabel 2. Hasil PCR dengan primer TB pada 13 sampel

No	Kode Sampel	Asal Sampel	Hasil PCR Tb	Hasil PCR emB	Hasil PCR katG	Hasil PCR rpoB
1	TB1	Lombok Timur	+	+	+	+
2	TB2	Lombok Timur	+	+	+	+
3	TB3	Lombok Timur	+	+	+	+
4	TB4	Lombok Timur	+	+	+	+
5	TB5	Lombok Timur	+	+	+	+
6	TB6	Lombok Timur	+	+	+	+
7	TB7	Lombok Timur	-	Td	td	Td
8	TB8	Lombok Timur	+	+	+	+
9	TB9	Lombok Timur	+	+	+	+
10	TB10	Lombok Timur	+	+	+	+
11	TB11	Lombok Timur	-	Td	td	Td
12	TB12	RSUP NTB	-	Td	td	Td

Ket : td=tidak diperiksa

Analisis hasil sekuensing dapat dilihat pada tabel 3. Pada sekuen sensitive rifampisin (RpoB) menunjukkan bahwa sekuen dari sampel TB5 dan TB6 identik dengan M.tb strain CCDC5079 sebesar 100% dan 99%, sekuen dari TB8 dan TB9 identik M.tb strain 96121 tingkat identik sebesar 100% dan 98%. Strain M.tb strain CCDC5079 termasuk ke dalam family M.tb Beijing dan M.tb strain 96121 termasuk dalam family Beijing dan Manila.

Sekuensing sampel yang masih sensitif etambutol menunjukkan bahwa sampel TB8 dan TB10 mempunyai sekuen EmB yang identik dengan *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *tuberculosis* partial embB gene for putative arabinosyltransferase mutant 240 exon 1 tingkat identik keduanya sebesar 100%. Pada sampel TB9 sekuen EmB nya identik dengan sekuen dari jenis M.tb strain 2a putative arabinosiltransferase (embB).

Sekuensing pada sampel yang masih sensitive isoniazid menunjukkan hasil yang sama yaitu sampel TB8, TB9 dan TB10 mempunyai sekuen katG yang identik dengan M.tb strain 96075. Strain ini menurut data NCBI merupakan sekuen

yang dimiliki oleh family M.tb dari Beijing dan Manila.

Tujuh puluh persen sekuen sampel penelitian ini menunjukkan kemiripan dengan sekuen dari Mtb family Beijing. Genotipe Mtb family Beijing pertama kali diperkenalkan pada tahun 1955, saat itu dilaporkan ditemukan pada 86% isolate dari Beijing Cina dan ditemukan juga dalam jumlah yang cukup besar di Mongolia, Thailan, dan Korea Selatan,<sup>8,9</sup> di Thailan infeksi Mtb family Beijing ini banyak ditemukan pada usia dewasa muda.<sup>7</sup> Studi mengenai Mtb family Beijing menggunakan tikus sebagai hewan uji menunjukkan bahwa beberapa strain dari family ini termasuk dalam golongan hipervirulen, dan lebih resisten terhadap vaksinasi BCG.<sup>10,11</sup> Penelitian di Indonesia yang dilakukan oleh Yudani dan Astuti (2010) di Malang menggunakan teknik spoligotyping menemukan genotip Beijing pada pasien dengan diagnose infeksi Mtb Sembilan dari Sembilan belas sampel, dengan kesimpulan akhir bahwa Mtb family Beijing dapat dikatakan mendominasi distribusi Mtb di wilayah Malang.<sup>12</sup>

**Tabel 3. Identifikasi Hasil Sekuensing dengan program Blast dari NCBI**

Sampel	Hasil sekuensing	Sekuen koleksi NCBI	Identik %
TB5	rpoB5	Mycobacterium tuberculosis strain CCDC5079	100
TB6	rpoB6	Mycobacterium tuberculosis strain CCDC5079	99
TB8	rpoB8	Mycobacterium tuberculosis strain 96121	100
	emB8	Mycobacterium tuberculosis subsp. tuberculosis partial emBB gene for putative arabinosyltransferase, mutant 240, exon 1	100
TB9	katG8	Mycobacterium tuberculosis strain 96075	97
	rpoB9	Mycobacterium tuberculosis strain 96121	98
	emB9	Mycobacterium tuberculosis strain 2a putative arabinosyltransferase (emBB) gene	100
TB10	katG9	Mycobacterium tuberculosis strain 96075,	99
	emB10	Mycobacterium tuberculosis subsp. tuberculosis partial emBB gene for putative arabinosyltransferase, mutant 240, exon 1,	100
	KatG10	Mycobacterium tuberculosis strain 96075	99

Distribusi bakteri M.tb yang ditularkan melalui droplet ludah sangat dipengaruhi dengan pola hidup dan higien sanitasi lingkungan, disamping itu mobilisasi penduduk dari Pulau Lombok yang bekerja di luar negri sebagai Tenaga Kerja Indonesia secara tidak langsung berperan dalam penyebaran beberapa jenis penyakit yang salah satunya adalah penyakit TB. Menurut data dari Dinas Tenaga Kerja Propinsi NTB jumlah tenaga kerja Indonesia yang bekerja di luar negeri berasal dari kabupaten Lombok Timur adalah 22.001 pada tahun 2011 dengan negara tujuan para pekerja tersebut adalah Malaysia, Saudi Arabia, Taiwan, Korea, dan Jepang. Dari beberapa sumber informasi tersebut terlihat jelas bahwa kemungkinan keidentikan jenis kuman Mtb yang ditemukan pada penelitian ini benar adanya jika dihubungkan dengan pesatnya mobilitas penduduk.

Penularan bakteri Mycobacterium tuberculosis dapat dipengaruhi oleh beberapa factor, yaitu : sistem imun individu, tingkat penularan, lingkungan dan frekwensi paparan bakteri. Faktor lingkungan, konsentrasi droplet yang mengandung bakteri M.tb tersebar dilingkungan yang padat penduduk atau tempat tinggal yang minim ventilasi

dan tidak mempunyai sirkulasi udara memadai merupakan salah satu cara penularan TB, disamping itu cara penanganan specimen yang mengandung bakteri M.tb yang tidak sesuai prosedur serta sirkulasi udara dalam ruang perawatan penderita TB di lingkungan tempat perawatan kesehatan dapat pula menjadi penyebab sumber penularan. Kedekatan dan lamanya factor paparan, semakin lama durasi paparan semakin besar terjadi penularan, semakin tinggi eksposur dan semakin dekat jarak dapat memperbesar resiko transmisi bakteri TB.<sup>13</sup>

### KESIMPULAN

Ditemukan adanya MDR TB. Semua sampel dahak yang diperiksa masih sensitive terhadap OAT rifampisin, etambutol dan isoniazid. Hasil sekuensing dari sampel yang sensitive OAT ditemukan kesesuaian sekuen rpoB dengan M.tb strain CCDC5079 dan M.tb strain 96121 yang termasuk dalam M.tb family Beijing (TB 5, TB6, TB8, TB9). Sekuen emB ditemukan memiliki kesesuaian dengan jenis M.tb strain putative arabinosyltransferase mutan 240 exon 1 (TB8, TB10) dan M.tb strain 2a putative arabinosyltransferase (TB9). Sedangkan

sekuen katG pada TB8, TB9 dan TB10 memiliki kesamaan dengan M.tb strain Beijing & Manila.

## DAFTAR PUSTAKA

- Centers for diseases control and prevention. TB Genotyping, download 4 April 2014 jam 08.45
- Diagnosis Dan Faktor Yang Mempengaruhi Terjadinya TB-MDR. Priyanti Z Soepandi Departemen Pulmonologi & Ilmu kedokteran Respirasi FKUI-RS Persahabatan, Jakarta
- Lisdawati et al. 2010. Studi Pemetaan Awal Dna Mycobacterium Tuberculosis Complex Secara Spoligotyping Pada Hasil Isolasi Dahak Pasien Tuberculosis Paru Dari 10 Ibu Kota Propinsi (Bagian I). Buletin Penelitian Kesehatan, Vol 38 no.4 Desember 2010
- Lopez, B., D. Aguilar, H. Orozco, M. Burger, C. Espitia, V. Ritacco, L. Barrera, K. Kremer, R. Hernandez-Pando, K. Huygen, and D. van Soolingen. 2003. *A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different Mycobacterium tuberculosis genotypes*. Clin. Exp. Immunol. 133:30-37.
- Manca, C., L. Tsenova, A. Bergtold, S. Freeman, M. Tovey, J. M. Musser, C. E. Barry III, V. H. Freedman, and G. Kaplan. 2001. *Virulence of a Mycobacterium tuberculosis clinical isolate in mice is determined by failure to induce Th1 type immunity and is associated with induction of IFN-alpha/beta*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:5752-5757.
- Niemann, S., S. Rusch-Gerdes, and E. Richter. 1997. *IS6110 fingerprinting of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains isolated in Germany during 1995*. J. Clin. Microbiol. 35:3015-3020.
- Qian, L., J. D. van Embden, A. G. van der Zanden, E. F. Weltevreden, H. Duanmu, and J. T. Douglas. 1999. Retrospective analysis of the Beijing family of Mycobacterium tuberculosis in preserved lung tissues. J. Clin. Microbiol. 37:471-474.
- Sjahrurachman, diagnosis MDR-TB Mikrobiologi FK.UJ download 2 April 2014
- Soedarsono. Tuberculosis Multidrug-resistant: Deteksi dan Penatalaksanaannya. Workshop dan seminar penatalaksanaan terkini berbagai penyakit metabolik, kardiovaskuler dan paru. Mataram. 2010.
- Thalib S, Widita H., Muttaqin Z., 2010. Penelitian Pola Kepekan Kuman Mycobacterium Tuberculosis Terhadap Obat Anti – TB Menggunakan Teknik PCR. Jurnal Kedokteran Mataram, Nomor 6 Juni, 2010.
- Tri Yudani MR1 dan Triwahju Astuti 2010. Distribusi M. Tuberculosis Genotipe Beijing pada Pasien Tuberculosis Paru di Malang. Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. 26, No. 2, Agustus 2010
- van Soolingen, D., L. Qian, P. E. de Haas, J. T. Douglas, H. Traore, F. Portaels, H. Z. Qing, D. Enkhsaikan, P. Nymadawa, and J. D. van Embden. 1995. *Predominance of a single genotype of Mycobacterium tuberculosis in countries of East Asia*. J. Clin. Microbiol. 33:3234-3238
- [www.cdc.gov/tb/education/corecurr/.../Chapter 2: Transmission and Pathogenesis of Tuberculosis](http://www.cdc.gov/tb/education/corecurr/.../Chapter%202%20Transmission%20and%20Pathogenesis%20of%20Tuberculosis). 21. Introduction. TB is an airborne disease caused by the bacterium *Mycobacterium tuberculosis*, download 8 Oktober 2014. 12.30 Wita
- Zacharia E., Kurniawan E., Pristianingrum S., 2013. Pola Resistensi Mycobacterium Tuberculosis Dari Sampel Dahak Penderita Tb Paru BTA Positif Terhadap Obat Anti Tuberculosis Dengan Teknik Multipel PCR. Laporan Penelitian PDP tahun anggaran 2013