

**TEMUAN NON-TUBERCULOUS MYCOBACTERIA DAN MYCOBACTERIUM  
TUBERCULOSIS COMPLEX PADA SPUTUM PENDERITA SUSPEK  
TUBERCULOSIS PARU DI RSUP DR. WAHIDIN SUDIROHUSODO, RS  
UNIVERSITAS HASANUDDIN, BALAI BESAR KESEHATAN PARU  
MASYARAKAT MAKASSAR DENGAN METODE POLYMERASE CHAIN  
REACTION**

*The Identification of Non-tuberculous mycobacteria And Mycobacterium tuberculosis  
complex In The Sputum Of Patients Suspected Tuberculosis at Wahidin  
Sudirohusodo Hospital, Hasanuddin University Hospital, and Makassar  
Community Lung Health Center on Using Polymerase Chain Reaction Method*



Oleh :

**dr. Fanny Indriyani Biyang  
C195211002**

Pembimbing 1 :

**Prof.dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D., Sp. MK., Subsp. Bakt.(K)**

Pembimbing 2 :

**dr. Lisa Tenriesa, M.Med. Sc., Sp.MK**

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI KLINIK  
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
2024**

**TEMUAN *NON-TUBERCULOUS MYCOBACTERIA* DAN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX* PADA SPUTUM PENDERITA SUSPEK TUBERCULOSIS PARU DI RSUP DR. WAHIDIN SUDIROHUSODO, RS UNIVERSITAS HASANUDDIN, BALAI BESAR KESEHATAN PARU MASYARAKAT MAKASSAR DENGAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION**

**Tesis**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis**

**Program Studi Mikrobiologi Klinik**

**Disusun dan diajukan oleh**

**FANNY INDRIYANI BIYANG**

**Kepada**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS MIKROBIOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR**

**2024**

## HALAMAN PENGESAHAN

## KARYA AKHIR

TEMUAN *Non-tuberculous mycobacteria* DAN *Mycobacterium tuberculosis complex* PADA SPUTUM PENDERITA SUSPEK TUBERKULOSIS PARU DI RSUP DR. WAHIDIN SUDIROHUSODO, RS UNIVERSITAS HASANUDDIN, BALAI BESAR KESEHATAN PARU MASYARAKAT MAKASSAR DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION*

Disusun dan diajukan oleh :  
FANNY INDRIYANI BIYANG  
Nomor Pokok : C195211002

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
Pada Tanggal 3 Juni 2024  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui  
Komisi Penasehat

Pembimbing Utama

Prof. dr. Muh. Nasrum Hasi, Ph.D., Sp.MK (K)

Pembimbing Anggota

dr. Lisa Tenrick, M.Med.Sc., Sp.MK.



Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp.MK (K)  
NIP. 19570416 198503 1 001



Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes., Sp.PD-KGH, Sp.GK.  
NIP. 19680530 199603 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis ini berjudul "Temuan *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* pada Sputum Penderita Suspek Tuberculosis Paru di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, RS Universitas Hasanuddin, Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar dengan Metode Polymerase Chain Reaction adalah benar karya saya dengan arahan komisi Pembimbing I: Prof.dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D., Sp. MK., Subsp. Bakt.(K) Pembimbing II: dr. Lisa Tenriesa, M.Med. Sc., Sp.MK. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka Tesis ini. Sebagian dari tesis ini telah diterima untuk dipublikasikan pada International Journal of Mycobacteriology. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atau perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 27 November 2024

Yang menyatakan



dr. Fanny Indriyani Biyang

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa atas kasihNya, penyertaanNya sehingga tesis saya dengan judul "**Temuan *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* pada Sputum Penderita Suspek Tuberculosis Paru di di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, RS Universitas Hasanuddin, Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar dengan Metode Polymerase Chain Reaction**" dapat terselesaikan dengan baik.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya saya sebagai penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Muh. Nasrum Massi, Ph.D., Sp.MK., Subsp.Bakt (K) sebagai penasehat utama yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam penyusunan tesis ini.
2. Prof. dr. Moch. Hatta, Ph.D, Sp.M.K., Subsp. Bakt. (K) selaku Ketua Program Studi Mikrobiologi Klinik dan juga selaku tim penilai yang telah meluangkan waktu dan memberi saran perbaikan tesis ini.
3. dr. Lisa Tenriesa, M.Med. Sc., Sp.MK selaku Sekertaris Departemen Mikrobiologi dan juga sebagai anggota penasehat yang telah meluangkan waktu membimbing, memberi saran dalam penyusunan tesis ini.
4. dr. Baedah Madjid, Sp.M.K., Subsp. Vir. (K) sebagai Dosen dan tim Penilai yang telah meluangkan waktu memberikan bimbingan dan arahan dalam perbaikan penyusunan tesis ini.
5. Dr. dr. Fadhilah M.Kes., Sp.MK., Subsp.Bakt. (K) selaku tim penilai yang telah meluangkan waktu memberi saran dalam perbaikan tesis ini.
6. Prof. dr. Firdaus Hamid, Ph.D., Sp.MK., Subsp. Bakt. (K) selaku Sekretaris Program Studi Mikrobiologi Klinik mengarahkan dalam penyusunan tesis ini.
7. dr. A.R. Sultan, DMM, M.Sc, Ph.D, Sp.MK, selaku Ketua Departemen Mikrobiologi, dan dosen yang telah memberikan ide awal penelitian ini, atas bimbingan dan arahan selama menempuh PPDS.
8. Para dosen, dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D., Sp.MK., SubSp.Vir(K), dr. dr. Yoeke D. Rasita, M.Ked.Klin, Sp.MK, dorongan semangat nya selama menempuh pendidikan ini.

9. Teman-teman PPDS Mikrobiologi, khususnya dr. Sari Asriany, Angkatan Coccobasil, Streptococcus, Tricophyton, Mirobiome, dr. Handayani, dr. Nurlianti atas dukungan dan dorongan semangat.
10. Para senior yang selalu mendukung, khususnya dr. Valentine, Sp.MK, dr.Arthur, Sp.MK, dr.AR. Ramadhan, Sp.MK, dr. Prajayanti, Sp.MK, dr.Andi Meutiah,Sp.MK, dan Dr. dr. Nadya, M.Kes., Sp.MK atas dr.Agjurina, Sp.MK dukungan, bimbingan dan dorongan semangatnya.
11. Keluarga besar saya, orang tua, suami saya Gerard de Ruiten, orang tua, mertua,anak, atas segala doa dan dukungan selama saya menempuh pendidikan.
12. Kepada Pak Taufik, Pak Syafri, Samsi, Zein, Bu Hajrah, Pak Kusnadi, Bu Mantasia, Pak Marhan, analis pada Laboratoirum Mikrobiologi RS DR. Wahidin Sudirohusodo, RS UNHAS atas bantuan dan dukungannya. Serta Kepada semua pihak yang telah membantu dalam rangka penyelesaian penelitian ini, baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, Penulis haturkan terima kasih.  
Penulis persembahkan tesis ini sebagai rasa terima kasih yang tulus. Penulis berharap penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan,masih banyak kekurangan sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan penelitian ini.

Makassar, 28 November 2024

Penulis



Fanny Indriyani Biyang



## ABSTRACT

FANNY BIYANG. *The Identification of Non-tuberculous Mycobacteria and Mycobacterium Tuberculosis Complex in the Sputum of Patients with Suspected Pulmonary Tuberculosis at RSUP DR. Wahidi Sudirohusodo, Hasanuddin University Hospital, Makassar Community Lung Health Center on Using Polymerase Chain Reaction Method* (supervised by Muhammad Nasrum Massi and Lisa Tenriesa)

Pulmonary tuberculosis (TB) is predominantly caused by *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) and can also involve nontuberculous mycobacteria (NTM). These pathogens pose significant global health challenges, particularly in developing countries. Differentiating between MTBC and NT in specimens is often difficult using conventional acid-fast staining methods, leading to an underestimation of NTM prevalence in TB-endemic regions. This study aims to identify mycobacterial species in sputum samples from patients suspected of having TB, utilizing polymerase chain reaction (PCR) assays and gene sequencing techniques. There were 111 sputum samples obtained from patients at DR. Wahidin Sudicohusodo General Hospital, Hasanuddin University Hospital, and Makassar Community Lung Health Center. The samples were analyzed at the Clinical Microbiology Laboratory of Hasanuddin University using standard microscopy and molecular detection techniques. Descriptive statistics were employed to summarize patient demographics, infection characteristics, and outcomes. The results show that the sputum obtained from suspected TB patients have an average age of 50.86 years. There are 16.2% ( $n = 18$ ) acid-fast bacteria in 111 patients with suspected pulmonary TB and molecularly, and there are 17.1% ( $n = 19$ ) *Mycobacterium* species identified with multiplex PCR. Three sputum samples are tested positive for NTM. Phylogenetic analysis, based on 16S rRNA gene sequencing, reveals similarities between the samples and known mycobacterial species. In conclusions, the study underscores the challenges in differentiating between MTBC and NTM, highlighting the necessity for molecular diagnostic approaches. Notably, NTM is found in sputum samples from patients previously treated for TB. These findings can serve as a reference to improve diagnostic accuracy and prevent misdiagnosis of mycobacterial infect

Keywords: mycobacteria, sputum, molecular assay, nontuberculous mycobacteria, mycobacterium tuberculosis complex



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TESIS</b> .....	<b>iv</b>
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR ISTILAH, SINGKATAN, DAN GAMBAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 <i>Latar Belakang Masalah</i> .....	1
1.2 <i>Rumusan Masalah</i> .....	2
1.3 <i>Pertanyaan Penelitian</i> .....	2
1.4 <i>Tujuan Penelitian</i> .....	3
1.4.1    Tujuan Umum .....	3
1.4.2    Tujuan Khusus.....	3
1.5 <i>Manfaat Penelitian</i> .....	3
1.5.1    Manfaat Akademik .....	3
1.5.2    Manfaat untuk Instansi Kesehatan.....	3
1.5.3    Manfaat untuk Peneliti.....	4
1.6 <i>Ruang Lingkup</i> .....	4
1.7 <i>Kebaruan Penelitian</i> .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>

2.1	<i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	5
2.1.1	Definisi <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	5
2.1.2	Klasifikasi <i>Nontuberculous mycobacteria</i> .....	6
2.1.3	Struktur <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	8
2.1.4	Karakteristik <i>Non tuberculous mycobacterium</i> .....	10
2.1.5	Kemampuan membentuk biofilm .....	11
2.1.6	Faktor Virulensi <i>Non- tuberculous mycobacterium</i> .....	13
2.1.7	Penyakit yang disebabkan <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	14
2.2	<i>Penyakit Paru Akibat Infeksi Non-tuberculous mycobacterium</i> .....	15
2.2.1	Definisi .....	15
2.2.2	Epidemiologi penyakit paru <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	15
2.2.3	Faktor risiko <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	16
2.2.4	Penularan <i>Non- tuberculous mycobacterium</i> .....	18
2.2.5	Patomekanisme <i>Non- tuberculous mycobacterium</i> .....	19
2.2.6	Peningkatan Kasus <i>Non- tuberculous mycobacterium</i> .....	21
2.2.7	Gambaran Infeksi <i>Non-tuberculous mycobacterium</i> .....	23
2.2.8	Diagnosis <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	25
2.2.9	Penatalaksanaan <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	25
2.2.10	Prognosis <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	26
2.2.11	Pengendalian <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	27
2.3	<i>Mycobacterium tuberculosis kompleks</i> .....	28
2.3.1	Definisi <i>Mycobacterium tuberculosis kompleks</i> .....	28
2.3.2	Epidemiologi <i>Mycobacterium tuberculosis kompleks</i> .....	28
2.3.3	Penularan <i>Mycobacterium tuberculosis kompleks</i> .....	29
2.4	<i>Metode Diagnosis Mycobacterium</i> .....	29
2.4.1	Diagnosis Klinis .....	29
2.4.2	Diagnosis Bakteriologis.....	30
2.4.3	Diagnosis Molekuler .....	34
2.5	<i>Kerangka Teori</i> .....	38
<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN DEFINISI OPERASIONAL.....</b>		<b>39</b>
3.1	<i>Kerangka Konsep</i> .....	39
3.2	<i>Definisi Operasional</i> .....	39
3.2.1	<i>Sputum</i> .....	39
3.2.2	Bartlett score .....	39
3.2.3	Pewarnaan Tahan Asam .....	41
3.2.4	PCR.....	41
3.2.5	Gen <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	41

3.2.6	Gen <i>Mycobacterium tuberculosis</i> kompleks.....	42
3.2.7	Sequencing .....	43
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>		<b>44</b>
4.1	<i>Jenis penelitian</i> .....	44
4.2	<i>Waktu dan Tempat</i> .....	44
4.2.1	Waktu penelitian .....	44
4.2.2	Tempat penelitian .....	44
4.3	<i>Populasi dan Sampel Penelitian</i> .....	44
4.3.1	Populasi penelitian .....	44
4.3.2	Subyek Penelitian .....	45
4.4	<i>Kriteria Subyek Penelitian</i> .....	45
4.4.1	Kriteria inklusi .....	45
4.4.2	Kriteria Eksklusi.....	45
4.5	<i>Jumlah Subyek Penelitian</i> .....	45
4.6	<i>Alur Penelitian</i> .....	47
4.7	<i>Pelaksanaan Penelitian</i> .....	48
4.7.1	Alat yang Dibutuhkan : .....	48
4.7.2	Bahan Yang Digunakan .....	49
4.8	<i>Prosedur Penelitian</i> .....	50
4.8.1	Pengambilan spesimen.....	50
4.8.2	Cara Penyimpanan.....	51
4.8.3	Prosedur Pemeriksaan Spesimen .....	51
4.8.4	Cara Pewarnaan Gram.....	52
4.8.5	Cara pengamatan di bawah mikroskop.....	53
4.8.6	Prosedur Pemeriksaan Multiplex PCR <i>Mycobacterium</i> species.....	54
4.8.7	Analisis dan Pengurutan Urutan DNA / Sekuensing DNA .....	57
4.9	<i>Cara Pengumpulan data</i> .....	57
4.10	<i>Rencana pengelolaan dan Analisa Data</i> .....	58
4.11	<i>Aspek Etika Penelitian</i> .....	58
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>59</b>
5.1	<i>Hasil Penelitian</i> .....	59
5.2	<i>Pembahasan</i> .....	64
<b>BAB VI PENUTUP .....</b>		<b>67</b>

6.1	<i>Kesimpulan</i> .....	67
6.2	<i>Saran</i> .....	67
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>68</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>74</b>
<b>Lampiran 1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....</b>		<b>74</b>
<b>Lampiran 2 Surat Izin Meneliti .....</b>		<b>75</b>
<b>Lampiran 3 Surat Etik Penelitian .....</b>		<b>79</b>
<b>Lampiran 4 Keputusan Protokol Amandemen.....</b>		<b>80</b>
<b>Lampiran 5 Data Penelitian.....</b>		<b>81</b>
<b>Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian.....</b>		<b>91</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Klasifikasi spesies <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> yang menyebabkan penyakit pada manusia .....	7
Tabel 2. 2 Mekanisme yang diketahui menjadi predisposisi penyakit paru <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	18
Tabel 2. 3 Kriteria infeksi paru <i>Non-tuberculous mycobacterium</i> berdasarkan American Thoracic Society/Infectious Disease Society of America Guideline (ATS/IDSA).....	24
Tabel 4. 1 Primer yang digunakan dalam penelitian	49
Tabel 4. 2 Penilaian Pewarnaan Gram .....	53
Tabel 5. 1 Karakteristik penderita suspek tuberculosis paru yang dapat berobat di di RSUP Dr.Wahidin Sudirohusodo, RS Universitas Hasanuddin dan Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar	60
Tabel 5. 2 Distribusi Sputum penderita suspek tuberculosis paru yang dapat berobat di di RSUP Dr.Wahidin Sudirohusodo, RS Universitas Hasanuddin dan Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar terhadap pemeriksaan BTA dan Multiplex PCR .....	61
Tabel 5. 3 Perbandingan hasil pemeriksaan BTA dan Multiplex PCR.....	61
Tabel 5. 4 Temuan Molekuler terhadap All <i>Mycobacterium</i> spesies, All <i>M.tuberculosis complex</i> , <i>M.tuberculosis</i> , <i>M.avium</i> , <i>M. intracellulare</i> , <i>M. abscessus</i> , <i>M. kansasii</i> pada penderita suspek tuberculosis paru .....	62
Tabel 5. 5 Distribusi frekuensi temuan <i>Non tuberculous mycobacterium</i> dan <i>Mycobacterium tuberculosis complex</i> penderita suspek tuberculosis paru yang dapat berobat di di RSUP Dr.Wahidin Sudirohusodo, RS Universitas Hasanuddin dan Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat .....	64

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Pohon phylogenetic dari <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> dengan pertumbuhan cepat dan lambat .....	8
Gambar 2. 2 Gambar dinding sel bakteri mycobacterium .....	10
Gambar 2. 3 Langkah pembentukan biofilm .....	12
Gambar 2. 4 Faktor virulensi <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> yang melibatkan Lipoarabinomannan, Glycopeptidolipids dan lipoglikan .....	14
Gambar 2. 5 Faktor Resiko Penyakit NTM .....	18
Gambar 2. 6 Jalur transmisi <i>Mycobacterium abscessus</i> .....	21
Gambar 2. 7 Evolusi insiden <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .....	22

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran 1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....</b>	<b>74</b>
<b>Lampiran 2 Surat Izin Meneliti .....</b>	<b>75</b>
<b>Lampiran 3 Surat Etik Penelitian.....</b>	<b>79</b>
<b>Lampiran 4 Keputusan Protokol Amandemen.....</b>	<b>80</b>
<b>Lampiran 5 Data Penelitian .....</b>	<b>81</b>
<b>Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian .....</b>	<b>91</b>

## DAFTAR ISTILAH, SINGKATAN, DAN GAMBAR

---

Singkatan/Lambang	Arti dan Penjelasan
%	Persen
°	Derajat
>	Lebih dari
<	Kurang dari
±	Kurang lebih
γ	gamma
α	alfa
/	per
μl	Mikroliter
IFN	Interferon
IL	Interleukin
mAGP	mycolyl-Arabinogalactan-peptidoglycan
MA	Mycolic acid
AG	arabinogalactan
PPG	peptidoglycan
LAM	lipoarabinomannan
GPL	glycopeptidolipid
DNA	Deoxyribonucleic acid
CT	Computed tomography
ATS	American Thoracic Society
IDSA	Infectious Disease Society of America
HRCT	high-resolution computed tomografi
BTA	Basil Tahan Asam
BAL	Broncho alveolar Lavage
NALC-NaOH	N-acetyl-l-cystein-sodium hydroxide

RGM	rapidly growing Mycobacterium
CDC	Center for Disease Control
WGS	Whole genome sequencing
LPA	Line Probe Assay
MLST	Multilocus Sequence Typing
INH	isoniazid
Rif	Rifampicin
MALDI-TOF MS	Matric-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
rRNA	Ribosomal Ribonucleic acid
RSUP	Rumah Sakit Umum Pusat
PCR	Polymerase Chain Reaction

---

Singkatan/Lambang	Arti dan Penjelasan
-------------------	---------------------

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Infeksi *Non-tuberculous mycobacteria* dan infeksi *Mycobacterium tuberculosis complex* adalah infeksi yang disebabkan oleh spesies mycobacterium dimana gejala klinisnya menyerupai penyakit infeksi tuberculosis paru (Halstrom et al., 2015a). Infeksi mycobacterium masih menjadi masalah global. Tuberculosis (TB) disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) ditetapkan sebagai pembunuh utama dan menjadi masalah kesehatan diseluruh dunia, terutama pada negara berkembang. Genus *Mycobacterium* terdiri dari beberapa spesies yang dibagi menjadi 3 kelompok, *Mycobacterium tuberculosis complex*, *Mycobacterium leprae*, dan *Mycobacterium atypical* atau *Non-tuberculous mycobacteria* (Koh, 2017; Ratnatunga et al., 2020). Setiap tahun. Penyakit akibat *Mycobacterium tuberculosis complex* dikaitkan dengan satu juta kematian akibat tuberculosis paru (TB) di seluruh dunia. Meningkatnya prevalensi penyakit akibat *Non-tuberculous mycobacteria* berkaitan erat dengan semakin meningkatnya juga interaksi manusia dengan lingkungan tertentu, adanya perubahan demografi penduduk, termasuk bertambahnya jumlah penduduk yang mengalami penurunan daya tahan tubuh akibat human immunodeficiency virus, keganasan, obesitas, penyakit lain seperti diabetes, penuaan serta intervensi medis seperti meluasnya penggunaan obat immunosupresif. Banyak *Non-tuberculous mycobacteria* sebagai pathogen oportunistik yang signifikan pada penderita dengan immunosupresi serta *Mycobacterium tuberculosis* yang termasuk dalam bagian *Mycobacterium tuberculosis complex* sebagai obligat patogen pada manusia (Anand & Biswas, 2021; A. S. Lee et al., 2009; Prieto et al., 2022; Rivero-Lezcano et al., 2019).

Penelitian di Amerika Utara, Eropa, dan Asia semuanya menunjukkan peningkatan kejadian *Non-tuberculous mycobacteria* selama dua dekade terakhir. Sebuah studi baru baru ini, menyajikan sistematik review literatur menemukan bahwa sebagian besar penelitian melaporkan peningkatan infeksi *Non-tuberculous mycobacteria* (82%) dari waktu ke waktu. Diagnosis banding spesies *Mycobacterium tuberculosis complex* dan *Non-tuberculous mycobacteria* dalam spesimen klinis sangat sulit dan sering menyesatkan karena keduanya menunjukkan hasil pewarnaan tahan asam apusan konvensional. Oleh karena itu, *Non-tuberculous mycobacteria* telah diremehkan di banyak negara endemik TB. (Dahl et al., 2022; Gopaldaswamy et al., 2020).

World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa estimasi jumlah kasus tuberculosis di seluruh dunia pada tahun 2021 sebanyak 10,6 juta kasus, naik sekitar 600.000 dari tahun 2020, ketika diperkirakan 10 juta kasus. Indonesia sendiri berada pada posisi kedua (ke-2) dengan jumlah penderita terbanyak di dunia setelah India.

Masalah muncul ketika kemungkinan kasus *Non-tuberculous mycobacteria* salah di diagnosis sebagai kasus drug-resistant tuberculosis (DR-TB). Oleh karena Penyakit infeksi paru yang disebabkan oleh *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* dapat memiliki gambaran klinis yang serupa, identifikasi *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* sangat penting untuk meminimalkan kesalahan klasifikasi dan kesalahan diagnosis. Oleh karena itu, penting untuk dapat mengidentifikasi dengan benar *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* karena rejimen pengobatan untuk *Non-tuberculous mycobacteria* tertentu berbeda dengan tuberculosis, juga mencegah dokter dalam memulai terapi antituberculosis pada penderita dengan *Non-tuberculous mycobacteria* (Agizew et al., 2017; Alemayehu et al., 2022; Kalpana et al., 2022). Untuk mencegah hal tersebut, salah satu tindakan yang tepat yang dapat diambil adalah menjadikan penyakit ini dapat dilaporkan pada otoritas kesehatan masyarakat. Pelaporan ini membutuhkan data. Oleh karena masih terbatas nya data yang ada di Indonesia, khususnya Makassar, maka peneliti ingin mengidentifikasi adanya Non tuberculous Mycobacterium dan *Mycobacterium tuberculosis complex* dari spesimen sputum pada penderita dengan suspek tuberculosis paru.

## 1.2 Rumusan Masalah

Peningkatan kasus *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis* yang memiliki gejala klinis yang hampir sama dengan tuberculosis paru, tetapi pengobatannya berbeda, menjadikan perlunya diidentifikasi dengan cepat kedua kelompok Mycobacterium ini. Belum banyak data, pelaporan mengenai keberadaan *Non-tuberculous mycobacteria* pada penderita suspek tuberculosis paru. Biakan bakteri merupakan gold standar dalam penegakkan diagnosis infeksi bakteri termasuk untuk mikobakterium, tetapi membutuhkan waktu yang relatif lama sebaiknya identifikasi spesies *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* menggunakan metode molekuler karena dapat lebih cepat dan lebih akurat.

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka masalah penelitian ini adalah : “Apakah bisa diidentifikasi spesies Non tuberculous Mycobacterium dan *Mycobacterium tuberculosis complex* dari sputum penderita suspek tuberculosis paru di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Wahidin Sudirohusodo, Rumah Sakit Universitas Hasanuddin dan Balai Kesehatan Paru Masyarakat Makassar?”

## 1.3 Pertanyaan Penelitian

1. Bagaimanakah proporsi *Non-tuberculous mycobacteria* pada spesimen sputum penderita suspek tuberculosis paru di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr. Wahidin Sudirohusodo, Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Balai Kesehatan Paru Makassar?

2. Bagaimanakah proporsi *Mycobacterium tuberculosis complex* pada spesimen sputum penderita suspek tuberculosis paru di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr. Wahidin Sudirohusodo, Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Balai Kesehatan Paru Makassar?

## **1.4 Tujuan Penelitian**

### **1.4.1 Tujuan Umum**

Untuk identifikasi *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* pada spesimen sputum penderita suspek tuberculosis dengan menggunakan metode molekuler di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo dan Rumah Sakit Universitas Hasanuddin dan Balai Kesehatan Paru Masyarakat Makassar

### **1.4.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui proporsi spesies *Non-tuberculous mycobacteria* pada spesimen sputum penderita suspek tuberculosis paru di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP)Dr. Wahidin Sudirohusodo, Rumah Sakit Universitas Hasanuddin dan Balai Kesehatan Paru Makassar.
2. Untuk mengetahui proporsi spesies *Mycobacterium tuberculosis complex* pada spesimen sputum penderita suspek tuberculosis paru di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr. Wahidin Sudirohusodo , Rumah Sakit Universitas Hasanuddin dan Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar

## **1.5 Manfaat Penelitian**

### **1.5.1 Manfaat Akademik**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan acuan untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan penelitian selanjutnya tentang infeksi spesies *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr. Wahidin Sudirohusodo , Rumah Sakit Universitas Hasanuddin dan Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar.

### **1.5.2 Manfaat untuk Instansi Kesehatan**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan masukan bagi instansi penyedia layanan kesehatan tentang kemungkinan infeksi yang disebabkan oleh spesies *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* , pada penderita dengan faktor resiko. Dengan demikian dapat dibuat kebijakan diagnosis laboratorium secara molekuler selain dengan cara diagnosis konvensional, sehingga dapat mencegah ketidakrasionalan dalam pemberian antibiotik.

### **1.5.3 Manfaat untuk Peneliti**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi, menambah wawasan serta pengalaman meneliti dan menulis bagi peneliti.

## **1.6 Ruang Lingkup**

Ruang lingkup penelitian ini adalah melihat kejadian *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* pada penderita suspek tuberculosis paru.

### **1.7 Kebaruan Penelitian**

Penelitian tentang infeksi *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex* dari spesimen sputum penderita suspek tuberculosis di Indonesia khususnya Makassar masih kurang, karenanya melalui penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan data awal untuk spesies *Non-tuberculous mycobacteria* dan *Mycobacterium tuberculosis complex*.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Non-tuberculous mycobacteria*

#### 2.1.1 Definisi *Non-tuberculous mycobacteria*

*Non-tuberculous mycobacteria* adalah *Mycobacterium* selain *Mycobacterium tuberculosis* dan *Mycobacterium leprae* yang juga sering disebut sebagai *atypical Mycobacterium*, *Mycobacterium other than tuberculosis* (MOTT) atau mikobakterium lingkungan atau mikobakterium selain *Mycobacterium tuberculosis* dan kerabat dekatnya, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium canettii*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium goodii* dan *Mycobacterium leprae* (CDC, 2019; Sharma & Upadhyay, 2020).

*Non-tuberculous mycobacteria* pada umumnya kurang virulensi dibanding dengan *Mycobacterium tuberculosis*, tetapi bagaimanapun organisme ini dapat menyebabkan penyakit pada host yang immunokompromais dan imunokompeten. *Non-tuberculous mycobacteria* adalah patogen oportunistik (mikroorganisme yang dapat menjadi patogen pada gangguan inangnya seperti penyakit sebelumnya, adanya koinfeksi, defisiensi imun maupun penuaan) (Dahl et al., 2022; Pereira et al., 2020; Prieto et al., 2022).

Paru-paru adalah organ yang paling sering terlibat dan penyakit paru *Non-tuberculous mycobacteria* sering terjadi pada penderita dengan penyakit paru yang sudah ada sebelumnya. *Non-tuberculous mycobacteria* dapat menyebabkan kerusakan paru karena adanya inflamasi yang progresif. Penyakit paru *Non-tuberculous mycobacteria* dapat dicirikan secara luas sebagai “*fibro-cavitary*” atau sebagai bronkiektasis nodular (Charles, et al., 2017). Tidak seperti pada TB paru, transmisi dari orang ke orang pada *Non-tuberculous mycobacteria* masih dipertimbangkan sebagai sumber infeksi, walaupun bukti untuk transmisi ini sudah dilaporkan terjadi pada penderita dengan kistik fibrosis yang terinfeksi dengan *Mycobacterium abscessus kompleks* (MABC) (David, 2017).

*Non-tuberculous mycobacteria* juga dapat terjadi pada ekstrapulmoner seperti pada kelenjar getah bening, kulit dan jaringan lunak. Organisme ini dapat ditemukan

pada lingkungan dan dapat diisolasi dari air, tanah, debu, tanaman, hewan liar, susu dan produk makanan ((Daley et al., 2022; Griffith, Aksamit, Brown-Elliott, Catanzaro, Daley, Gordin, Holland, Horsburgh, Huitt, Iademarco, Iseman, Olivier, Ruoss, von Reyn, et al., 2007; Sharma & Upadhyay, 2020b)).

### 2.1.2 *Klasifikasi Nontuberculous mycobacteria*

Berdasarkan *taxonomy* :

Domain :Bacteria

*Phylum* : *Actinobacteria*

Order : *Corynebacteriales*

*Family* : *Mycobacteriumceae*

*Genus* : *Mycobacterium* sudah ditemukan 190 spesies.

Identifikasi dari genus *Mycobacterium* dimulai pada akhir tahun 1800an dengan ditemukannya basil kusta ( aslinya bernama *Bacillus leprae* oleh Hansen dan basil tuberkel (aslinya bernama *Bacterium tuberculosis*). Klasifikasi baru dimulai pada tahun 1896 ketika Lehmann dan Neumann menempatkan genus *Mycobacterium* dalam keluarga *Mycobacteriumceae*, order *Actinomycetales* dan Kelas *Actinomycetes*. Pada periode awal, klasifikasi didasarkan pada satu atau lebih karakter atau pola karakter yang dimiliki oleh semua anggota *Mycobacterium* dan yang tidak dimiliki oleh anggota kelompok lain. Dimana ciri berbentuk batang, non motil, dan tahan asam juga dimiliki oleh *Nocardia*, *Rhodococcus*, dan *Corynebacterium* sehingga kriteria tambahan dikembangkan untuk membedakan, termasuk pewarnaan gram, laju pertumbuhan dan profil asam mikolat (Velayati & Farnia, 2019).

Menurut Runyon pada tahun 1959 klasifikasi dari *Non-tuberculous mycobacteria* berdasarkan kecepatan pertumbuhan, dan produksi pigmennya (Sharma & Upadhyay, 2020).

**Tabel 2. 1 Klasifikasi spesies *Non-tuberculous mycobacteria* yang menyebabkan penyakit pada manusia**

<i>Non-tuberculous mycobacteria</i> dengan pertumbuhan yang lambat ( terlihat pertumbuhan dalam > 7 hari		<i>Non-tuberculous mycobacteria</i> dengan pertumbuhan yang cepat ( terlihat pertumbuhan dalam < 7 hari )	
1	<i>Photochromogens</i> (produksi pigmen pada cahaya)	4	<i>M. abcessus</i> , <i>M. abcessus subspecies abcessus</i>
	<i>M. kansasii</i>		<i>M. abcessus subspecies abcessus</i>
	<i>M. marinum</i>		<i>M. phlei</i>
2	Scotochromogens ( produksi pigmen ketika pada suasana gelap)		<i>M. abcessus subspecies boletii</i>
	<i>M. scrofulaceum</i> , <i>M. gordonae</i> , <i>M. flavescens</i>		<i>M. fortuitum</i>
3	Non-chromogens ( tidak mempunyai pigmen)		<i>M. chelonae</i> <i>M. semgmatis</i>
	<i>M. avium kompleks (MAC)</i>		
	<i>M. avium</i>		
	<i>M. intracellulare</i>		
	<i>M. chimaera</i>		
	<i>M. xenopi</i>		
	<i>M. ulcerans</i>		

Sumber : (Pennington et al., 2021; Sharma & Upadhyay, 2020)

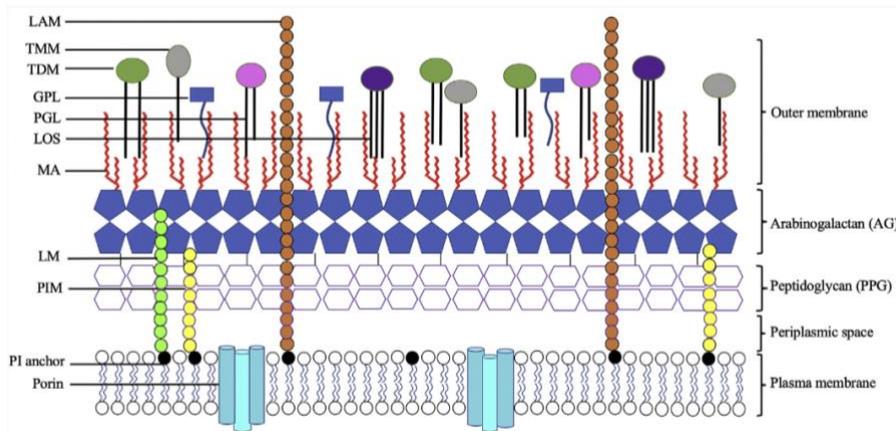


*tuberculous mycobacteria*. Hidrofobisitas *Non-tuberculous mycobacteria* menyebabkan organisme ini memiliki kecenderungan untuk aerosolisasi dari air dan menyebabkan banyak organisme ini resistan dengan suhu yang tinggi dan relatif resistan pada pH yang rendah (Pennington et al., 2021).

Pembungkus sel mikobakterium adalah struktur yang kompleks terdiri dari membran plasma dan dinding sel yang terdiri dari lipid yang mengandung asam lemak dan lipoprotein. Struktur *mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan* (mAGP) yang membentang di dinding sel menciptakan kerangka inti yang terdiri dari *mycolic acid* (MA), yang berhubungan dengan *arabinogalactan* (AG) yang ditambahkan ke lapisan *peptidoglycan* (PPG). mAGP memainkan peran penting dalam keseluruhan komponen dan impermeabilitas dinding sel mikobakterium ini. *Mycolic acid* dan homolognya terdiri dari asam lemak rantai panjang 2-alkil, 3-hidroksi yang adalah struktur penting yang mempertahankan struktur sel, membentuk tali seperti ular. Tingginya jumlah MA pada dinding sel berkontribusi terhadap rendahnya permeabilitas mikobakteri terhadap agen hidrofolik seperti antibiotik, glukosa dan gliserol. *Mycolic acid* tidak terikat atau teresterifikasi ke unit terminal *penta-arabinofuranyl arabinogalactan* yang membentuk lapisan luar mikobakterium. Heteropoliakarida *arabinogalactan*, terdiri dari arabinosa dan galaktosa, mewakili 35% dari total pembungkus sel mikobakterium (Tran et al., 2019).

Polimer ini *mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan* (mAGP) membentuk kerangka struktural serta membentuk barier hidrofobik yang bertanggung jawab atas resistensi intrinsik mikobakterium ke sejumlah antibiotik. *Arabinogalactan* terletak diantara membran plasma dan lapisan luar *Mycolic acid*, dan secara kovalen terhubung dengan PPG untuk membentuk polimer ultra besar. *Peptidoglycan mycobacterium* membentuk fondasi lapisan dalam dinding sel yang terdiri dari residu  $\beta$ -(1,4) berikatan dengan *N-acetylglucosamine* (NAG) dan *N-acetylmuramic acid* (NAM) yang kemudian disebut sebagai rantai glikan. *Peptidoglycan* adalah struktur yang seperti jala yang kuat namun fleksibel yang fungsinya melindungi, memelihara integritas bakteri, menahan tekanan osmotik dan jangkar kompleks protein dan lipid. Pembungkus sel mikobakterium juga memiliki ruang periplasma yang memisahkan kompleks *mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan* dari membran plasma, serta lapisan kapsuler luar yang terdiri dari glukan, protein, dan sejumlah kecil lemak. Pembungkus sel mikobakterium ini juga mengandung komponen lipid asil seperti trehalalose 6,6'-dimycolate (TDM) serta porin. Struktur

dinding yang kompleks ini membuat mikobakterium dapat bertahan hidup (Tran et al., 2019).



**Gambar 2. 2** Gambar dinding sel bakteri mycobacterium

**Sumber :** Tran et al., 2019

Dinding sel mikobakteri terdiri dari susunan paralel *mycolic acid* (warna merah) yang terhubung ke lapisan tengah *arabinogalactan* ( segi enam biru) yang pada gilirannya secara kovalen menempel pada lapisan dalam *peptidoglycan* (segi enam ungu). *Mycolic acid*, *arabinogalactan*, *peptidoglycan* bersama-sama membentuk kompleks *mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan* yang menyediakan struktur dan berkontribusi terhadap impermeabilitas dinding sel mikobakteri. Kompleks mAGP dipisahkan oleh membran lipid bilayer plasma oleh ruang periplasma. Lipid utama *fosfatidylinositol* (PIM, kuning), *lipomannan* (LM, hijau terang), and *lipoarabinomannan* (LAM, oranye) melekat pada membran membran plasma melalui jangkar *fosfatidylinositol* (PI, hitam). Pada membran luar ada *phenolicglycolipid* (PGL, pink) dan *lipooligosaccharides* (LOS, ungu). Tambahan komponen seperti *trehalose 6,6'-dimycolate* (TDM, hijau tua), *trehalose 6-monomycolate* (TMM, abu), porins (biru terang), and glycopeptidolipid (GPL, persegi panjang biru) juga terlihat (Tran et al., 2019).

#### 2.1.4 Karakteristik *Non tuberculous mycobacterium*

Dinding sel yang bersifat hirofopik sehingga *impermeable* / kedap terhadap air dan antibiotik, serta mengakibatkan kematian yang lambat, membutuhkan waktu untuk beradaptasi pada lingkungan yang baru, bersifat resistan terhadap disinfektan. Dan juga memiliki kemampuan membentuk biofilm pada *indwelling medical devices* (seperti

kateter, implan sendi, implan katup jantung, dan jenis implan yang lain), mudah difagositosis oleh makrofag, Adanya dinding sel yang bersifat hidrofobik juga diperkaya dengan aerosol ( sehingga membuat mudah transmisi

Satu sampai dua Ribosomal Cistron yang juga membuat pengurangan kecepatan pertumbuhan, waktu untuk beradaptasi dengan antibiotik, dan keadaan anaerob.

Bersifat tahan asam, sehingga dapat hidup di lambung dan vesikel fagosomal.

Mikroaerobic, dapat hidup keadaan yang kadar oksigen 6% dan 12 % (Primm & Falkinham, 2014).

### 2.1.5 Kemampuan membentuk biofilm

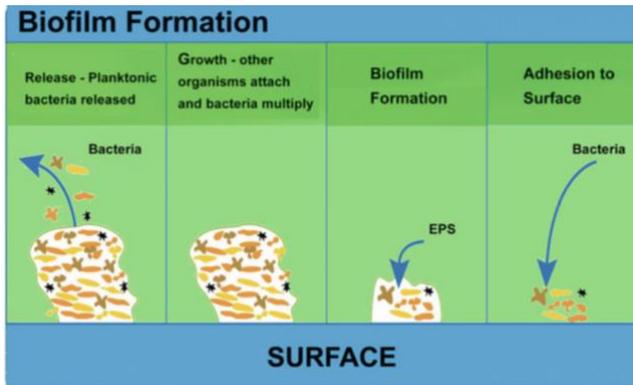
Pembentukan biofilm adalah strategi bertahan hidup organisme termasuk *Non-tuberculous mycobacterium* terhadap kondisi lingkungan. Biofilm terdiri dari sel bakteri, eksopolisakarida, protein ekstraseluler, serta DNA ekstraseluler yang diatur oleh genetik dan faktor lingkungan meliputi media, ketersediaan nutrisi, sifat matriks, pH, suhu, bahan organik. Selama sintesis biofilm, bakteri menggunakan quorum sensing untuk membuat sinyal dari satu sel ke sel lainnya. Pada *mycobacterium*, glikopeptidolipid berperan dalam pembentukan biofilm dan perlekatan pada permukaan. Asam mikolik pada bakteri berkontribusi pada pembentukan amplop mikobakterium, juga memberikan penghalang permeabilitas untuk antibiotik dan disinfektan. Biofilm menyelamatkan mikroorganisme dari pH yang berubah, kelangkaan nutri, osmolaritas, gaya geser serta sebagai sebagai penghalang terhadap kekebalan inang. Jadi adanya matriks biofilm memberikan daya tahan tambahan terhadap bakteri patogen untuk mentolerir kondisi yang tidak menguntungkan, serta dapat memicu resistensi terhadap berbagai antibiotik yang membuka jalan terhadap peningkatan kasus multi drug resistance (Kundan Kumar Chaubey, 2021; Martin et al., 2021).

Adanya pembentukan biofilm *Non-tuberculous mycobacterium* pada permukaan khususnya pada unit fasilitas kesehatan dapat memfasilitasi persistensinya, dan menyebabkan penyebaran infeksi (Kundan Kumar Chaubey, 2021).

Sintesis biofilm pada *mycobacterium* sebagian besar mirip dengan komunitas biofilm lainnya, meskipun beberapa diantaranya spesies mikobakteri dapat dapat mengembangkan biofilm pada permukaan dan udara. Beberapa protein memainkan peran potensial dalam akumulasi serta perlekatan sel (Kundan Kumar Chaubey, 2021).

Sintesis biofilm adalah proses bertahap, terdiri dari absorpsi molekul (makro dan mikro) ke permukaan inang, diikuti *adhesi* bakteri pada permukaan sel inang memicu

pelepasan ekstraseluler zat polimer (EPS), serta kolonisasi bakteri, pematangan biofilm diakhir dengan pelepasan/penyebaran. (Kundan Kumar Chaubey, 2021)



Gambar 2. 3 Langkah pembentukan biofilm

Sumber: Kundan Kumar Chaubey, 2021

### ***Mycobacterium avium kompleks***

Spesies MAC, khususnya *M. avium*, penyebab sebagian besar *Non-tuberculous mycobacteria -pulmonary disease* di seluruh dunia, dengan 80% di beberapa negara seperti Amerika Serikat [AS], Irlandia, dan Korea Selatan *M. avium* adalah spesies *Mycobacterium avium kompleks* yang paling umum untuk paru-paru dan *M. intracellulare* lebih umum di Jepang Selatan dan Barat, Taiwan, dan China penyakit nonpulmoner ditemukan di Amerika, Eropa, Korea, Jepang Utara, dan Timur.

Glikolipid *Mycobacterium avium kompleks* adalah antigen permukaan sel penting yang mengaktifkan sistem kekebalan dan melindungi sel dari respons inang. GPL spesifik serotipe digunakan untuk membagi spesies MAC di setidaknya 31 serotipe [15]. Beberapa jenis sero [1, 4, 8, 9] dikaitkan dengan infeksi *M. avium* pada penderita AIDS [16], dan serotipe 4 dikaitkan dengan prognosis yang lebih buruk pada PD [17]. MAC dan *Non-tuberculous mycobacteria* lainnya adalah patogen virulen rendah yang dapat menyebabkan penyakit melalui kerusakan lokal pada pertahanan pejamu pada titik masuk. Pada penderita dengan penyakit kronis, ini dapat terjadi melalui kerusakan pembersihan epitel bronkus yang rusak setelah terhirup.

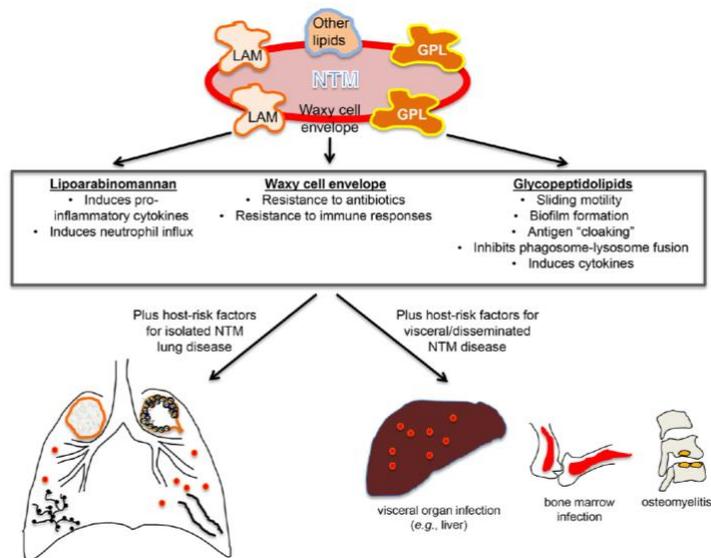
Penyakit paru-paru atau gangguan kekebalan dengan gangguan pembunuhan setelah masuk melalui pernapasan atau gastrointestinal [GI] memungkinkan organisme memasuki sirkulasi dan menyebar ke organ yang jauh. Pembersihan kekebalan *Non-tuberculous mycobacteria* yang mencakup MAC, membutuhkan sumbu interferon utuh [IFN]- $\gamma$ -interleukin [IL]-12, fagositosis yang efektif, dan pembunuhan intraseluler dengan hemopoiesis dan jumlah sel T helper CD4+ yang memadai [19]. Faktor nekrosis tumor [TNF]- $\alpha$  juga membantu mengikat bakteri melalui pembentukan granuloma.

### 2.1.6 Faktor Virulensi *Non- tuberculous mycobacterium*

Virulensi disebut sebagai kemampuan patogen untuk menyebabkan penyakit, khusus untuk mikobakterium juga tergantung pada kemampuan mereka untuk tinggal di dalam sel inang dan menghindari mekanisme mikrosidal dari makrofag (Gabriella, 2018). Beberapa faktor virulensi diantaranya glikolipid asam mikolat, yang dapat menimbulkan pembentukan granuloma; katalase-peroksidase, yang menolak respon sel inang; dan sulfatida, trehalosa dimycolate, dan lipoarabinomannan, yang dapat menginduksi sitokin (Schlossberg, 2017).

Amplop sel lilin tebal merupakan faktor virulensi yang paling penting. Mereka melindungi mereka dari antibiotik dan pertahanan inang. Amplop sel untuk *Non- tuberculous mycobacterium* terdiri dari 60% lipid dibandingkan dengan bakteri gram negatif yang hanya memiliki 20%. Ada dua jenis glikopeptidolipid (GPL), GPL nonspesifik dan GPL spesifik, yang terutama menginduksi pembentukan biofilm dan karakteristik sliding motilitas. Faktor virulensi berikutnya untuk *Non- tuberculous mycobacterium* adalah lipoarabinomannan (LAM) (Kalpana, 2022). *Lipoarabinomannans* (LAM) juga dikenal sebagai faktor virulensi dan merupakan lipid mikobakteri yang ada di mana-mana. Namun, LAM tertentu mampu memicu respon imun inang yang efektif, sehingga dapat merusak mikobakterium. LAM terdiri dari tiga domain struktural yaitu karbohidrat dan 2 inti (mannan dan arabinan). Berbagai kapsul yang menutupi arabinan mengklasifikasikan 3 tipe heterogen dari molekul LAM :(Jönsson, 2009)

LAM yang memiliki kapsul manosilasi kecil adalah ManLAM (ditemukan dalam patogen *M.tuberculosis*, *M. leprae* dan *Non- tuberculous mycobacterium* seperti *M. avium*). LAM yang memiliki kapsul phophatydylinositol adalah PILAM (ditemukan dalam *M. fortuitum* dan *M. smegmatis*). Lam yang tidak memiliki kapsul adalah LAM kapsul ara (AraLAM) ditemukan di *M. chelonae*)



**Gambar 2. 4 Faktor virulensi *Non-tuberculous mycobacteria* yang melibatkan Lipoarabinomannan, Glycopeptidolipids dan lipoglukan**

**Sumber :** (Honda et al., 2015)

### 2.1.7 Penyakit yang disebabkan *Non-tuberculous mycobacteria*

Penyakit paru akibat *Non-tuberculous mycobacteria* dengan gejala klinik batuk, penurunan berat badan, dan keringat pada malam hari yang biasa terjadi pada individu yang immunokompeten.

#### 1. *Cystic fibrosis* akibat *Non-tuberculous mycobacteria*.

Selama sepuluh tahun terakhir, semakin jelas bahwa penderita fibrosis kistik rentan terhadap infeksi mikobakterium pada paru. *Mycobacterium avium* dan *Mycobacterium abscessus* telah diisolasi dari penderita cystic fibrosis secara terpisah, Studi terbaru tentang epidemiologi infeksi M. absesus pada penderita *cystic fibrosis* menunjukkan bahwa penularan infeksi dari penderita ke penderita jarang terjadi, dan sumber infeksi lainnya mungkin berasal dari lingkungan.

#### 2. Cervical limfadenitis NTM adalah infeksi kelenjar getah bening leher dan mandibula yang menyebabkan pembengkakan kelenjar terutama pada anak-anak berusia enam bulan hingga dua tahun. Jika tidak diobati, ini dapat menyebabkan sinus mengering. Adanya bakteri tahan asam pada aspirasi menentukan diagnosis.

Mayoritas kasus disebabkan oleh *Mycobacterium scrofulaceum* hingga tahun 1985, tetapi sekarang *Mycobacterium avium* adalah patogen di seluruh negara maju.

3. *Disseminated* infeksi *Non-tuberculous mycobacteria* (bakteri) menyebar pada AIDS dan populasi immunosupresi lainnya. Orang yang terinfeksi HIV dengan jumlah CD4+ di bawah 100 cenderung mengembangkan infeksi *Mycobacterium avium* diseminata. Beberapa sampel, seperti sputum, feses, sumsum tulang, atau jaringan, digunakan untuk diagnosis.
4. Infeksi kulit akibat *Non-tuberculous mycobacteria* biasanya berupa Granuloma kulit yang disebabkan oleh *Mycobacterium marinum* sering dikaitkan dengan orang yang terpapar ikan baik karena pekerjaan mereka (misalnya, nelayan komersial) atau karena memiliki akuarium di rumah atau kantor.

## **2.2 Penyakit Paru Akibat Infeksi *Non-tuberculous mycobacterium***

### **2.2.1 Definisi**

*Non-tuberculous mycobacteria lung disease* adalah penyakit yang disebabkan oleh *Non-tuberculous mycobacteria spesies*

### **2.2.2 Epidemiologi penyakit paru *Non-tuberculous mycobacteria***

Pada tabel 2.1 menggambarkan distribusi berbagai jenis spesies *Non-tuberculous mycobacteria* yang terdapat pada lingkungan. Telah dilaporkan terjadi transmisi *M. abscessus* dan *M. massiliense* walaupun secara tidak langsung diantara penderita yang terdiagnosis *cystic fibrosis* (CF). Pelaporan sistematis untuk diagnosis *Non-tuberculous mycobacteria* belum dilakukan, karena penyakit ini belum dimasukkan ke dalam beberapa otoritas kesehatan masyarakat di beberapa negara. Tingkat infeksi paru-paru *Non-tuberculous mycobacteria* didefinisikan sebagai individu dengan kultur *Non-tuberculous mycobacteria* positif dan individu dengan penyakit paru *Non-tuberculous mycobacteria* meningkat seiring bertambahnya usia. Dari data AS pada tahun 2010 menunjukkan bahwa prevalensi kultur *Non-tuberculous mycobacteria* positif meningkat. Hal yang sama juga pada data Inggris menunjukkan bahwa *Non-tuberculous mycobacteria* dengan kultur positif meningkat berkisar antara 1,4 dan 6,6/100.000 individu. Penelitian dari Kanada melaporkan terjadi peningkatan yang signifikan dalam prevalensi penyakit paru *Non-tuberculous mycobacteria* dari 29,3 kasus/100.000 individu dari tahun 1998-2002 ke 41,3 kasus/ 100.000 individu pada tahun 2006-2010 (Sharma & Upadhyay, 2020).

Prevalensi penyakit *Non-tuberculous mycobacteria* pada bronkiektasis *non cystic fibrosis* (NCF) di Amerika Serikat diperkirakan 37% dengan isolat yang paling banyak adalah *Mycobacterium avium kompleks* (MAC). Telah terjadi peningkatan 8,4% setiap tahun yang didokumentasikan antara tahun 1997 dan 2003 terhadap isolat *Non-tuberculous mycobacteria* pada laboratorium di Amerika Serikat dan Kanada. Studi di Inggris menunjukkan peningkatan yang serupa dengan tingkat infeksi *Non-tuberculous*

*mycobacteria* lebih dari tiga kali lipat dari 0,9 kasus/ 100.000 pada tahun 1995 menjadi 2,9 kasus/ 100.000 pada tahun 2006. Studi di Korea Selatan menunjukkan peningkatan 62% pada penyakit paru *Non-tuberculous mycobacteria* dari tahun 2002-2008. Sebuah penelitian di China juga menunjukkan tingkat isolasi *Non-tuberculous mycobacteria* dari 3 menjadi 8,5% dari tahun 2008-2012 (Ratnatunga et al., 2020). Perkiraan prevalensi penyakit *Non-tuberculous mycobacteria* meningkat 2,4 kasus/ 100.000 pada awal tahun 1980-an menjadi 15,2 kasus/ 100.000 pada tahun 2013 di Amerika Serikat. Prevalensi pada populasi lanjut usia (> 65 tahun) lebih dari dua kali lipat dari 20 kasus/ 100.000 menjadi 47 kasus/ 100.000 populasi pada tahun 1997-2007 di Amerika Utara. Angka serupa juga tercatat dalam penelitian di Kanada yang, prevalensi meningkat dari 4,65 kasus/100.000 pada tahun 1998 menjadi 9,08 kasus/ 100.000 pada tahun 2010. Laju isolasi laboratorium meningkat dari 11,4 isolat/ 100.000 pada tahun 1998 menjadi 22,22 isolat/ 100.000 pada tahun 2010 (Ratnatunga et al., 2020).

### **2.2.3 Faktor risiko *Non-tuberculous mycobacteria***

Faktor risiko terjadinya *Non-tuberculous mycobacteria* dibagi menjadi dua, yaitu pajanan (dari paparan lingkungan) dan kerentanan pejamu (faktor host)

#### **1. Pajanan**

Beberapa aktifitas dilaporkan berisiko meningkatkan pajanan terhadap *Non-tuberculous mycobacteria* seperti kontak langsung dengan air (berenang), tanah (berkebun) dan udara (mandi air panas).

#### **2. Kerentanan pejamu / Faktor Host**

Tiga kelompok utama dari host meliputi penderita yang immunocompromised, populasi menua, dan individu yang kekurangan gizi sangat rentan terhadap *Non-tuberculous mycobacteria*. Pria lanjut usia dengan faktor risiko seperti konsumsi alkohol, merokok, penyakit obstruktif paru kronis, cystic fibrosis dan wanita lanjut usia tanpa faktor risiko yang disebutkan di atas sangat rentan. Orang dengan kekurangan gizi, akan memiliki cacat pada dorongan inspirasi dan kelemahan otot inspirasi yang menyebabkan cacat dalam mekanisme pembersihan saluran napas. Penyakit paru *Non-tuberculous mycobacteria* terjadi terutama pada 3 kelompok besar penderita : (Glodić et al., 2021; Griffith, Aksamit, Brown-Elliott, Catanzaro, Daley, Gordin, Holland, Horsburgh, Huitt, Iademarco, Iseman, Olivier, Ruoss, von Reyn, et al., 2007; Honda et al., 2015)(Honda et al., 2015).

#### **3. Penderita dengan kelainan anatomi paru yang biasanya tidak memiliki dasar genetik yang dapat diidentifikasi (misalnya bronkiektasis lokal dari infeksi sebelumnya, emfisema, pneumokoniosis seperti silikosis). Infeksi *Non-tuberculous mycobacteria* sering terjadi pada individu dengan penyakit**

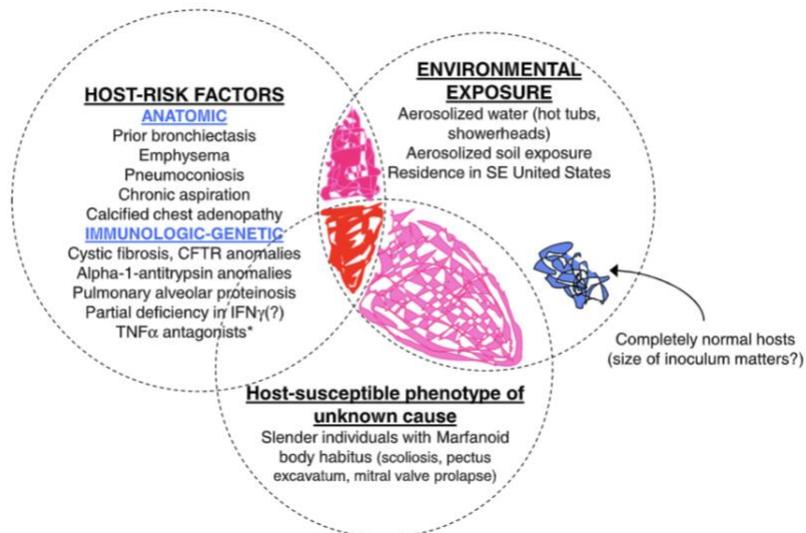
paru yang kronis. Penyakit paru yang kronis tersebut menyebabkan terjadi inflamasi pada sel epitel yang bersifat kronis, yang menyebabkan terganggunya pembersihan mukosilier.

4. Penderita dengan gangguan imunologi, yang sudah diketahui atau dicurigai kelainan genetik yang menjadi predisposisi bronkiektasis dan/ atau infeksi paru-paru (misalnya fibrosis kistik, diskinesia silia primer, defisiensi alfa-1-antitripsin sindrom *Williams-Campbell*, sindrom Mounier-Kuhn, sindrom Sjogren, proteinosis alveolar paru, dan immunodefisiensi. Pada penderita dengan HIV, infeksi *Non-tuberculous mycobacteria* diseminata biasanya terjadi setelah limfosit-T CD4 jumlahnya turun di bawah 50/ $\mu$ l, ini menunjukkan produksi dan aktivitas sel T untuk melawan mikobakteri (Griffith et al., 2007).
5. Individu yang tidak ada kelainan pada paru dan tidak ada gangguan imunologi. Terjadinya penyakit paru pada individu tanpa kondisi predisposisi yang diketahui sudah diketahui, dan telah diamati tidak sedikit terjadi pada penderita yang memiliki Indeks Massa Tubuh (IMT) yang rendah, kelainan rongga thoraks seperti *pectus excavatum* dan skoliosis. Hal ini dihubungkan dengan defisiensi leptin pada penderita IMT yang rendah. Kekurangan leptin seperti pada individu yang kurus, menyebabkan berkurangnya limfopoiesis dan gangguan diferensiasi sel T ke dalam fenotipe Th1 penghasil Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ). Leptin juga mengaktifkan makrofag dan meningkatkan produksi sitokin pelindung inang seperti tumor nekrosis faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) dan Interleukin-12 (IL-12). Penurunan kadar leptin pada individu yang ramping dapat berkontribusi pada peningkatan kerentanan terhadap mikobakterium (Kartalija et al., 2013). Secara eksperimental, tikus yang kekurangan leptin, lebih rentan terhadap infeksi paru oleh karena *Mycobacterium abscess*. Kelainan rongga thoraks, seperti pada sindrom Marfan (MFS), kelainan genetik yang disebabkan oleh mutasi gen *Fibrillin-1*.

**Tabel 2. 2 Mekanisme yang diketahui menjadi predisposisi penyakit paru *Non-tuberculous mycobacteria***

Mekanisme predisposisi	Keadaan yang terjadi
Disfungsi cilia	Diskinesia silia primer, bronkiektasis
Inspirasi sekresi	Kistik fibrosis
Disfungsi makrofag	Defisiensi alfa-1-antitripsin, paparan silika, proteinosis alveolar paru
Defisiensi spesifik dari imun	Yang mendapatkan terapi antitumor nekrosis faktor, Variabel immunodefisiensi
Defisiensi kartilago pada saluran napas	Sindrom Williams-Campbell
Defisiensi elastin pada saluran napas	Sindrom Mounier-Kuhn

**Sumber :** Honda et al., 2015



**Gambar 2. 5 Faktor Resiko Penyakit NTM**

### 2.2.4 Penularan *Non-tuberculous mycobacterium*

Cara penularan ke manusia belum dapat dengan pasti ditentukan dan diyakini. Meskipun rute pasti *Non-tuberculous mycobacterium* tidak ditetapkan, berdasarkan distribusi lingkungan *Non-tuberculous mycobacterium*, sangat mungkin *Non-tuberculous*

*mycobacterium* tertelan, terhirup atau tertanam (Johnson & Odell, 2014). Penularan *Non-tuberculous mycobacterium* dapat diperoleh dari inhalasi droplet aerosol yang terinfeksi. Shower di kamar mandi memiliki peranan atas pajanan aerosol *Non-tuberculous mycobacterium*. Instalasi air bersih dirumah dengan suhu pemanas air  $\leq 50^{\circ}$  C lebih seriiing ditemukan kolonisasi *Non-tuberculous mycobacterium* dibanding suhu  $\geq 50^{\circ}$  C. Pot tanah terutama yang kaya dengan humus memiliki konsentrasi kolonisasi yang tinggi, debu yang dihasilkan dari tanah memiliki ukuran yang cukup kecil untuk dapat masuk ke alveoli. Aerosolisasi tetesan yang cukup kecil, dapat memasuki alveoli paru dan menyebabkan penyakit infeksi paru. Tinggal berdekatan, batuk, dan tidak menggunakan masker merupakan faktor resiko terjadinya penularan. Usia lanjut, immunosupresi dan penggunaan kortikosteroid merupakan faktor resiko tertular organisme ini. Begitu organisme memasuki individu, mereka biasa menetap di saluran udara bagian bawah, dalam beberapa kasus, bakteri memicu reaksi inflamasi dengan masuknya limfosit. Pelepasan sitokin dan mediator lain yang dihasilkan dapat menyebabkan proses infeksi yang muncul (Mirabal & Ferrer, 2022).

### **2.2.5 Patomekanisme *Non-tuberculous mycobacterium***

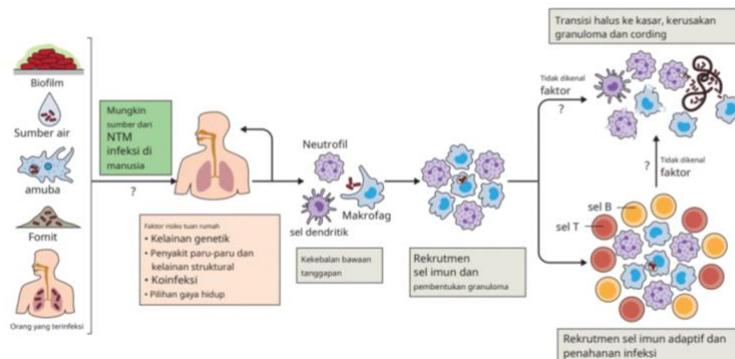
Penyakit paru *Non-tuberculous mycobacterium* tanpa penyebab dasar yang diketahui. Kondisi seluler dan fisiologis yang menyebabkan penyakit *Non-tuberculous mycobacterium* ini kurang dipahami. Interaksi kompleks dari molekul lipid adalah faktor yang paling penting bertanggung jawab untuk virulensi mikobakteri. Mirip dengan tuberculosis, fagositosis seperti makrofag sangat penting, infeksi *Non-tuberculous mycobacterium* dan mikobakteri dapat bertahan hidup dan tumbuh di dalam fagosit yang terinfeksi. Sitokin seperti interleukin 12, tumor necrosis factor alfa, interferon gamma, sangat penting dalam respon imun untuk antimikroba. Antibodi tampaknya memainkan peran kecil dalam infeksi *Non-tuberculous mycobacterium* pada manusia. Pembentukan granuloma adalah bentuk mekanisme pertahanan terhadap mikobakteri, tetapi pada penderita immunocompromised, pembentukan granuloma ini tidak sempurna. Selain ini, granuloma dapat pecah, dan mikobakterium yang viable/hidup dapat keluar, menyebar dan mengakibatkan kekambuhan atau infeksi yang luas

Tidak mengherankan bahwa *Non-tuberculous Mycobacterium* dapat menginfeksi sel epitel bronkial karena sifat infeksi yang berpusat pada saluran napas paru-paru. Protein pengikat fibronektin yang ditemukan di permukaan *Mycobacterium avium* mengikat fibronektin pada permukaan mukosa dan membantu mikobakteri berikatan

lebih spesifik dengan reseptor integrin . Basil yang telah masuk ke dalam sel epitel mengalami perubahan fenotipik yang meningkatkan kemampuan mereka untuk menyerang makrofag. *Non-tuberculous mycobacteria* mampu menghambat produksi sitokin inflamasi dan pembentukan biofilm, ini adalah mekanisme yang dapat menurunkan imunitas inang, dan mendorong kolonisasi dan selanjutnya menginvasi epitel; bronkial. *Non-tuberculous mycobacteria* yang di opsonisasi dengan komponen komplemen seperti C3b dan C4b juga dapat masuk ke dalam makrofag alveolar setelah berikatan dengan reseptor komplemen yang ada pada fagosit, reseptor makrofag lain yang terlibat dalam fagositosis *Non- tuberculous mycobacterium* termasuk reseptor manosa. Mekanisme penghindaran kekebalan yang memungkinkan *Non-tuberculous mycobacteria* bertahan dalam makrofag termasuk penghambatan fusi fagosom-lisosom, pergeseran metabolisme ke lingkungan intraseluler yang lebih anaerobik, induksi gen yang terkait dengan *Non-tuberculous mycobacteria* yang meningkatkan replikasi, penghambatan langsung fungsi makrofag inang dan proliferasi limfosit, dan mungkin melalui induksi apoptosis makrofag (Honda et al., 2015).

*Non-tuberculous mycobacteria* seperti *Mycobacterium Abscessus*, dapat bertahan hidup di lingkungan, dan kontaminasi air telah ditunjukkan sebagai faktor signifikan yang meningkatkan risiko infeksi *Non- tuberculous mycobacterium* terutama infeksi *Mycobacterium abscessus*. Biofilm dianggap sebagai reservoir untuk spesies *Non- tuberculous mycobacterium*, dan *Mycobacterium Abscessus* dapat ditemukan dalam biofilm dan aerosol berbasis pancuran. Namun, reservoir lingkungan *Mycobacterium Abscessus* belum diketahui, tetapi analisis genomik telah menemukan elemen genetik tertentu yang dapat meningkatkan kehidupan intraseluler di lingkungan tanah dan perairan. Namun, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memastikan potensi reservoir ini. Kelainan genetik seperti cystic fibrosis adalah salah satu risiko infeksi pejamu. Penyakit paru kronis lainnya, seperti bronkiektasis, juga merupakan faktor risiko penting. Ini terutama berlaku ketika seseorang terinfeksi bakteri lain, seperti *Pseudomonas aeruginosa*. Meskipun masih diperdebatkan, penelitian baru menunjukkan bahwa gaya hidup Anda mungkin merupakan faktor risiko yang berpotensi menyebabkan *Mycobacterium abscessus*. Setelah bakteri *Mycobacterium abscessus* terpapar, sel kekebalan seperti neutrofil dan makrofag memfagositosis bakteri yang menyerangnya. Namun, *Mycobacterium abscessus* dapat menimbulkan infeksi dan melawan kerusakan intraseluler, yang menyebabkan aktivasi sistem kekebalan,

perekrutan sel kekebalan lebih lanjut, dan pembentukan granuloma. Saat granuloma matang, respons kekebalan adaptif diaktifkan, dan limfosit B dan T direkrut untuk membungkus granuloma. *Mycobacterium abscessus* varian halus dapat berubah secara ireversibel menjadi varian kasar. Hal ini menyebabkan pembentukan tali bakteri yang besar yang mampu menahan fagositosis dan menyebabkan kerusakan jaringan yang signifikan. Tidak ada pemicu biologis yang diketahui yang bertanggung jawab atas proses ini.



**Gambar 2. 6 Jalur transmisi *Mycobacterium abscessus***

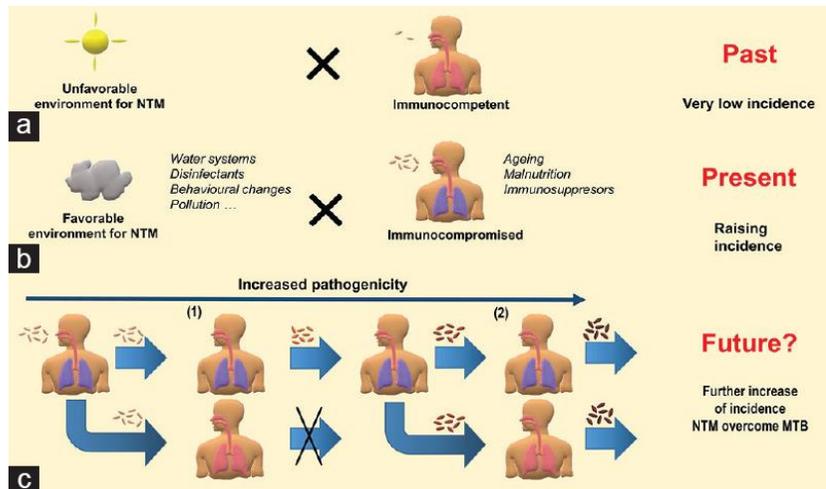
Sumber : Johansen et al., 2020

### 2.2.6 Peningkatan Kasus *Non-tuberculous mycobacterium*

Faktor-faktor yang berkontribusi pada peningkatan kasus *Non tuberculous mycobacterium* (Johansen et al., 2020):

1. Evolusi genetik pada *Non-tuberculous mycobacterium* karena mutasi menyebabkan peningkatan virulensi.
2. Perubahan lingkungan dan iklim akibat peningkatan infrastruktur buatan manusia
3. Terjadinya perubahan imunitas akibat peningkatan harapan hidup dan populasi yang mengalami gangguan sistem imun.
4. Peningkatan insiden kejadian penyakit paru kronis.
5. Menurunnya *herd immunity* karena menurunnya beban TB terutama di negara berpenghasilan tinggi
6. Ketersediaan yang luas CT scan dan infrastruktur laboratorium untuk diagnosis *Non-tuberculous mycobacterium*
7. Meningkatnya kesadaran tenaga medis tentang penyakit *Non-tuberculous mycobacterium*

8. Peningkatan dalam publikasi mengenai *Non-tuberculous mycobacterium* yang dilakukan pada laboratorium dan praktik dokter.



**Gambar 2. 7** Evolusi insiden *Non-tuberculous mycobacteria*

**Sumber :** Rivero-Lezcano et al., 2019

Pada abad ke 20, interaksi antara bakteri lingkungan termasuk *Non-tuberculous mycobacteria* sangat jarang, sebagai konsekuensinya mikobakterium hanya terdapat pada lingkungan dan inang mampu bertahan/ imunokompeten.

- a. Pada seperempat abad sampai saat ini, manipulasi manusia terhadap lingkungan terus bertambah, mendukung multiplikasi dan penyebaran mikobakterium, meningkatkan resiko infeksi pada penderita yang mengalami imunokompromais. Interaksi antara lingkungan dan *Non-tuberculous Mycobacterium*, termasuk adanya perubahan perilaku seperti makin meluasnya penggunaan sistem proses pengolahan air, penggunaan terapi immunosupresif, telah meningkatkan kejadian mikobakteriosis.
- b. Paparan mikobakterium yang sering pada inang imunokompromais, dapat memfasilitasi perkembangan mikobakteriosis. 1. Inang yang imunokompromais menawarkan lingkungan baru untuk mikobakterium beradaptasi dan bermutasi sehingga dapat meningkatkan faktor virulensi nya ( ditandai dengan basil yang lebih bewarna gelap). Sebaliknya inang yang imunokomptoten mampu melawan infeksi mikobakterium sehingga transmisi tidak terjadi. 2. Setelah

beberapa kali pemaparan oleh mikobakterium pada inang yang imunokompromais, patogenitas dari mikobakterium makin meningkat sehingga dapat menjadi patogen sejati. Dalam keadaan ini, resistan individu/inang terhadap mikobakterium lingkungan, dan kemampuan mikobakterium untuk bermultiplikasi mungkin tidak dapat dicegah. Dalam situasi ini, insiden *Non-tuberculous mycobacteria* dapat mengalahkan *Mycobacterium tuberculosis* (Johansen et al., 2020).

### **2.2.7 Gambaran Infeksi *Non-tuberculous mycobacterium***

Gejala paru dari infeksi paru *Non-tuberculous mycobacterium* biasanya tidak spesifik, meliputi batuk yang kering maupun produktif, sesak nafas, hemoptisis, demam, malaise, sampai penurunan berat badan (Daley, Iaccarino, Lange, Cambau, Wallace, Andrejak, Böttger, Brozek, Griffith, Guglielmetti, Huitt, Knight, Leitman, Marras, Olivier, Santin, Stout, Tortoli, van Ingen, et al., 2020; Griffith, Aksamit, Brown-Elliott, Catanzaro, Daley, Gordin, Holland, Horsburgh, Huitt, Iademarco, Iseman, Olivier, Ruoss, von Reyn, et al., 2007; Velayati & Farnia, 2019). Infeksi paru *Non-tuberculous mycobacterium* memiliki gejala yang sama dengan infeksi paru karena tuberculosis (Koh, 2017).

Tabel 2. 3 Kriteria infeksi paru Non- tuberculous mycobacterium berdasarkan American Thoracic Society/Infectious Disease Society of America Guideline (ATS/IDSA)

No.	Klinis		Mikrobiologi
1.	Gejala paru, adanya nodular atau kekeruhan kavitas pada rontgen atau <i>high-resolution computed tomografi (HRCT)</i> , menunjukkan bronkiektasis multifocal dengan beberapa nodul kecil.	1.	Hasil kultur positif dari setidaknya 2 sampel sputum. Jika hasil ( 1) nondiagnostik, pertimbangkan mengulang pewarnaan sputum BTA dan kultur.
2.	Pengecualian sesuai diagnosis lain (misalnya tuberculosis)	2.	Hasil kultur positif dari setidaknya 1 sampel bilasan bronkus
		3.	Transbronkial atau biopsi paru-paru lainnya menunjukkan gambaran histopatologi mikobakterium! (peradangan granulomatosa atau BTA) dan kultur positif untuk NTP atau biopsi menunjukkan histopatologi ( peradangan atau BTA) dan satu atau lebih sputum atau lebih bilasan bronkus yang positif <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> .
		4.	Konsultasi dengan ahli harus diperoleh ketika spesies <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> . yang jarang ditemukan atau yang biasanya sebagai hanya sebagai kontaminan dari lingkungan.
		5.	Penderita suspek infeksi paru <i>Non-tuberculous mycobacterium</i> tetapi tidak memenuhi kriteria diagnostik harus diikuti sampai diagnosis ditegakkan
		6.	Penegakkan diagnosis infeksi paru <i>Non-tuberculous mycobacteria</i> tidak memerlukan lembaga terapeutik, tetapi keputusan pemberian terapi berdasarkan potensi risiko dan manfaat bagi setiap penderita.

Evaluasi minimum penderita yang diduga menderita infeksi paru *Non tuberculous mycobacterium* harus mencakup: 1. Rontgen Dada atau jika tidak ada terlihat kavitas, diperlukan *high-resolution computed tomografi (HRCT)*, 2. Tiga atau lebih spesimen dahak untuk analisis BTA, 3. Mengesampingkan penyakit lain seperti tuberculosis dan keganasan paru. Kriteria klinis, radiografi dan mikrobiologi sama pentingnya dan semua harus terpenuhi untuk menegakkan diagnosis infeksi paru *Non-*

*tuberculous mycobacterium* Kriteria pada tabel diatas berlaku untuk penderita bergejala, dengan gambaran opasitas pada radiologi, gambaran nodular, atau kavitas atau hasil *high-resolution computed tomografi* menunjukkan bronkiektasis multifocal dengan beberapa nodul kecil. Kriteria ini paling sesuai untuk jenis *Mycobacterium avium kompleks* (MAC), *Mycobacterium kansasii*, dan *Mycobacterium abscessus*. Tidak cukup data yang diketahui tentang sebagian besar *Non-tuberculous mycobacteria* lain untuk memastikan bahwa kriteria diagnostik ini dapat diterapkan secara universal untuk semua patogen *Non-tuberculous mycobacteria* saluran pernapasan (Cowman et al., 2019; Griffith et al., 2007).

Presentasi radiologis untuk *Non-tuberculous mycobacteria* -PD (*pulmonary disease*) lebih sugestif biasanya terdapat dua pola, dengan nodul ( penyakit “nodular bronkiektasis”) atau kavitas dengan fibrosis (penyakit fibrocavitary).

### **2.2.8 Diagnosis *Non-tuberculous mycobacteria***

Diagnosis *Non-tuberculous mycobacteria* membutuhkan korelasi gejala klinis dengan temuan radiologi, serta konfirmasi mikrobiologis untuk mencari agen penyebabnya. Pengumpulan dan identifikasi spesimen mungkin perlu diulang beberapa kali untuk mengkonfirmasi suatu diagnosis infeksi *Non-tuberculous mycobacteria*. Sering kali ditemukan kesulitan dalam penilaian suatu infeksi *Non-tuberculous mycobacteria*, sehingga diperlukan konsultasi dengan spesialis yang berpengalaman dalam pengelolaan infeksi *Non-tuberculous mycobacteria*, terutama bila hasil pemeriksaan mikroskopik tidak sesuai dengan gambaran klinis penderita (Pennington et al., 2021).

### **2.2.9 Penatalaksanaan *Non-tuberculous mycobacteria***

Infeksi *Non-tuberculous mycobacteria* paru lebih sulit diobati daripada tuberkulosis. Terapi farmakologis untuk infeksi paru *Non-tuberculous mycobacteria* bergantung pada jenis *Mycobacterium* yang ada. *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium malmose*, *Mycobacterium xenopi*, dan *Mycobacterium Avium kompleks* adalah spesies yang paling umum. Setelah biakan sputum menunjukkan hasil negatif, terapi medikamentosa diberikan secara kontiniu selama 12 bulan. Tabel 1 menunjukkan rekomendasi pengobatan penyakit paru *Non-tuberculous mycobacteria* saat ini berdasarkan American Thorasic Society (ATS) tahun 2007. ATS menyarankan pengobatan infeksi MAC dengan nodul atau bronkiektasis dengan regimen harian klaritromisin (1.000 mg) atau azitromisin (250 mg), rifampin (600 mg), atau rifabutin (150-300 mg) dan etambutol (15 mg/kg). Untuk penyakit paru MAC fibrokavitas, regimen harian klaritromisin (1.000 mg) atau azitromisin (250 mg), rifampin (600 mg) dan etambutol (25 mg/kg)

diberikan tiga kali seminggu. Untuk *Non-tuberculous mycobacterium* lain seperti *M. kansasii*, *M. malmoense*, dan *M. xenopi*, kombinasi yang sama juga disarankan. Antibiotik golongan makrolida seperti azitromisin dan klaritromisin adalah obat utama untuk infeksi paru MAC. Makrolida ini menunjukkan aktivitas klinis terhadap MAC secara *in vitro* dan memiliki kemampuan untuk masuk ke fagosit dan jaringan (Griffith, Aksamit, Brown-Elliott, Catanzaro, Daley, Gordin, Holland, Horsburgh, Huitt, Iademarco, Iseman, Olivier, Ruoss, Von Reyn, et al., 2007; Ryu et al., 2016).

Menggabungkan makrolida (azitromisin atau klaritromisin), rifampin atau rifabutin, dan etambutol, baik dengan atau tanpa aminoglikosida intravena, disarankan. Untuk penderita dengan bronkiektasis nodular, disarankan untuk melakukan "triple therapy" tiga kali seminggu dengan makrolida, etambutol, dan rifampisin daripada melakukannya setiap hari untuk meningkatkan toleransi obat dan efisiensi biaya. Terapi harian dengan streptomisin atau amikasin disarankan untuk penderita fibrokavitasi atau penyakit berat. Dalam kasus resistensi obat yang signifikan, kegagalan terapi farmakologi, atau hemoptisis masif, pembedahan dapat efektif. Setelah bedah reseksi adjuvan, pengobatan dengan konversi sputum dapat berhasil pada 81% hingga 100% penderita. Meskipun tingkat keberhasilan pengobatan cukup tinggi, morbiditas akibat komplikasi pasca operasi adalah 7% hingga 25% dan mortalitas 0% hingga 3%. Infeksi paru-paru oleh *Mycobacterium avium kompleks* menyebabkan mortalitas 25,6% (Griffith, Aksamit, Brown-Elliott, Catanzaro, Daley, Gordin, Holland, Horsburgh, Huitt, Iademarco, Iseman, Olivier, Ruoss, Von Reyn, et al., 2007; Ryu et al., 2016).

Infeksi paru-paru *Non-tuberculous mycobacteria* dapat menimbulkan kesulitan untuk mengelola terapi antibiotik. Keberhasilan pengobatan dapat meningkat dalam kasus ini dengan terapi bedah tambahan untuk mengangkat paru-paru yang paling parah. Operasi mungkin menjadi pilihan terbaik dalam kasus hemoptisis berat. Menurut penelitian terbaru, bedah *adjuvan* telah ditunjukkan berhasil, dengan konversi dahak 80% hingga 100% pada penderita setelah pembedahan. Karena komplikasi pasca operasi memiliki morbiditas 7% hingga 25% dan tingkat kematian 0% hingga 3%, pembedahan memerlukan evaluasi pra operasi yang menyeluruh (Mirabal & Ferrer, 2022).

### **2.2.10 Prognosis *Non-tuberculous mycobacteria***

Penderita yang terinfeksi *Non-tuberculous mycobacteria* memiliki prognosis yang buruk jika dibandingkan dengan penderita TB atau populasi umum, terutama pada kasus koinfeksi *Non-tuberculous mycobacteria* /Tuberculosis. Kematian *Non-tuberculous*

*mycobacterium* dikaitkan dengan karakteristik demografis tertentu, tetapi penggunaan makrolida jangka panjang dapat memberikan manfaat kelangsungan hidup (H. Lee et al., 2021).

Prognosis infeksi paru karena *Non-tuberculous mycobacteria* diprediksi. Jika dibandingkan dengan individu yang memiliki sistem kekebalan yang kuat, penderita yang memiliki sistem kekebalan yang lemah mungkin mengalami hasil yang lebih buruk. Selain itu, prognosis akan bergantung pada jenis *Non-tuberculous mycobacterium* yang diderita, seperti yang ditunjukkan oleh penelitian terbaru yang menunjukkan bahwa penderita dengan infeksi paru karena MAC memiliki lebih baik prognosis dibandingkan dengan penderita dengan *Non-tuberculous mycobacteria* paru lainnya. Selain itu, jika dibandingkan dengan penderita dengan jenis lain dari *Non-tuberculous mycobacteria*, tingkat kematian yang lebih tinggi ditemukan pada penderita dengan *Mycobacterium abscessus lung infection*. Pada akhirnya, kronis penyakit paru dasar kronik bersama dengan infeksi jenis *Non-tuberculous mycobacteria*, khususnya *Mycobacterium abscessus*, tampaknya menjadi faktor utama yang menentukan tingkat kematian penderita dengan *Non-tuberculous mycobacteria* penyakit paru (Mirabal & Ferrer, 2022).

### **2.2.11 Pengendalian *Non-tuberculous mycobacteria***

Pencegahan infeksi nosokomial dan infeksi karena *Non-tuberculous mycobacterium* sangat menantang. Karena struktur dan kandungan lipid yang tinggi dan dinding sel berlapis tiga membuat *Non-tuberculous mycobacteria* lebih tahan terhadap desinfeksi, suhu tinggi, dan sinar ultraviolet dibandingkan dengan bakteri patogen yang lain. Penggunaan disinfektan, efektivitas disinfektan terhadap mikobakterium tergantung pada komposisi dan konsentrasi agen yang aktif, keberadaan bahan organik, waktu kontak disinfektan. Instrumen yang menyentuh selaput lendir membutuhkan desinfeksi tingkat tinggi (Phillips & Von Reyn, 2001).

Langkah-langkah pengendalian harus didasarkan pada spesies *Non-tuberculous mycobacteria*, jenis wabah, dan kelompok penderita potensial pada peningkatan risiko infeksi. Pengendalian wabah nosokomial *Non-tuberculous mycobacteria* memerlukan pengawasan yang memadai oleh tim pengendalian infeksi, penerapan teknik pengetikan molekuler, identifikasi sumber yang cepat, dan lembaga tindakan pengendalian yang efektif. Dekontaminasi peralatan atau perlengkapan pemipaan dapat dicapai dengan autoklaf jika memungkinkan, membilas bagian yang tidak dapat dilepas dengan agen mycobactericida, dan mengikuti protokol dekontaminasi peralatan terjadwal secara ketat.

Hal yang perlu diperhatikan untuk pencegahan di laboratorium (Forbes et al., 2018; Sharma & Upadhyay, 2020)

1. Efek disinfektan tergantung pada konsentrasi disinfektan, durasi disinfeksi, dan muatan mikrobakteri dalam larutan atau pada permukaan.
2. Hindari penggunaan klorin, benzalkonium klorida, cetilpiridinium klorida, senyawa amonium kuaterner dan disinfektan berbasis fenolik atau glutaraldehid karena *Non-tuberculous mycobacteria* tahan terhadap bahan kimia ini.
3. Penggunaan air ledeng, atau air suling yang disimpan harus dihindari.
4. Penggunaan alkohol 70% dan fenol 5% sebagai disinfektan direkomendasikan untuk pembersihan bangku dan filter pada biosafety.
5. Autoklaf (pada suhu 131° C dibawah tekanan 15 psi) dari peralatan plastik dan kaca gelas yang digunakan di laboratorium sangat dianjurkan.
6. Pekerja laboratoruium harus mencari kontaminasi oleh mikroorganisme lain seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Nocardia*, *Aspergillus*, dan lain-lain.
7. Harus memperhatikan suhu inkubasi, karena setiap spesies dapat bervariasi antar 27-45 C dan membutuhkan pemantauan rutin.
8. Uji kepekaan obat selektif harus dilakukan
9. Pekerja laboratorium harus mengetahui status penyakit penderita dan harus berkoordinasi dengan dokter yang merawat saat melaporkan spesies dan supspesies *Non-tuberculous mycobacteria*.

## **2.3 *Mycobacterium tuberculosis* kompleks**

### **2.3.1 Definisi *Mycobacterium tuberculosis* kompleks**

*Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBC) terdiri dari sejumlah spesies yang saling terkait yang dapat menyebabkan tuberculosis pada manusia dan hewan. Spesies dari MTBC ini antara lain: *M. africanum* (yaitu MTBC di garis keturunan 5 dan 6), *M. bovis*, *M. canettii*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. mungi*, *M. orygis*, *M. pinnipedii*, *M. suricattae*, dan *M.tuberculosis* (MTBC di garis keturunan 1 sampai 4, garis keturunan 7 dan garis keturunan 8)(Bespiatykh et al., 2021)..

### **2.3.2 Epidemiologi *Mycobacterium tuberculosis* kompleks**

Menurut World Health Organization (WHO), lebih dari 8 juta kasus baru tuberculosis muncul setiap tahun, dan sekitar 3 juta orang meninggal akibat penyakit tersebut Sembilan puluh lima

persen dari kasus tuberculosis terjadi dinegara berkembang , dimana kasus infeksi HIV juga dapat terjadi. *Mycobacterium tuberculosis*, menginfeksi diantara 19-43% populasi dunia. Sekitar 15 juta orang di United States terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* Meskipun jumlah kasus TB di Amerika Serikat telah menurun dalam beberapa tahun terakhir, infeksi *Mycobacterium tuberculosis* masih sangat banyak (Primm & Falkinham, 2014).

### **2.3.3 Penularan *Mycobacterium tuberculosis* kompleks**

Hingga saat ini, *M. tuberculosis* adalah bakteri yang paling sering ditemukan dan menular antar manusia melalui rute udara. Namun, *M. bovis* dapat bertahan dalam susu sapi yang terinfeksi dan masuk ke mukosa saluran cerna dan jaringan limfe orofaring saat seseorang mengonsumsi susu sapi yang terinfeksi. Jumlah kasus infeksi *M. tuberculosis* pada manusia telah menurun. Infeksi dengan organisme lain sangat jarang. Sebagian besar, tuberculosis menular dari satu orang ke orang lain melalui udara melalui percik renik atau droplet nucleus (berukuran kurang dari 5 micron) yang keluar ketika seseorang terinfeksi tuberculosis paru atau laring batuk, bersin, atau bicara. Penderita tuberculosis paru juga dapat menerima percik renik melalui udara (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2019, 2020)

## **2.4 Metode Diagnosis Mycobacterium**

### **2.4.1 Diagnosis Klinis**

Keluhan, hasil anamnesis ditambahkan dengan pemeriksaan klinis serta pemeriksaan laboratorium, dan pemeriksaan tambahan lainnya menentukan diagnosis tuberculosis. Keluhan dan hasil anamnesis meliputi keluhan penderita dan wawancara secara menyeluruh terhadap penderita.

Pemeriksaan klinis dilakukan berdasarkan gejala dan tanda tuberculosis, seperti: a. Gejala utama tuberculosis paru-paru adalah batuk berdahak yang berlangsung selama lebih dari dua minggu batuk dapat kering atau produktif. Gejala tambahan seperti dahak bercampur darah, batuk darah, sesak nafas, badan lemas, nafsu makan dan berat badan menurun, kelelahan, berkeringat saat tidur tanpa bergerak, dan demam meriang dapat muncul setelah batuk (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016, 2019; Reichman & Hershfield, 2000).

Dalam anamnesis, ada tiga kategori yang perlu diperhatikan antara lain faktor: sosioekonomi, biologis, dan riwayat kontak. Kategori-kategori ini menempatkan penderita yang memiliki gejala klinis pada risiko yang lebih tinggi untuk tertular tuberculosis. Risiko sosioekonomi, status ras atau etnis minoritas, negara asal (terutama penderita TB tinggi), negara prevalensi dan/atau status pengungsi, berpenghasilan rendah, perlu mendapat perhatian. Tuberculosis telah dikaitkan dengan pekerjaan tertentu, seperti pekerja pada perawatan kesehatan. Orang tua yang tinggal di panti jompo dan narapidana di fasilitas pemasyarakatan

adalah dua kelompok yang lebih berisiko. Pada dasarnya, kondisi medis yang dimediasi sel kekebalan yang tertekan didorong oleh faktor risiko biologis; infeksi HIV adalah salah satu faktor risiko terbesar. Diabetes melitus, keganasan, silikosis, malnutrisi, transplantasi organ, ginjal gagal atau dialisis, dan diabetes adalah kondisi medis lain yang meningkatkan risiko tertular tuberculosis (Reichman & Hershfield, 2000)

#### 2.4.2 Diagnosis Bakteriologis

Pemeriksaan Mikroskopik / Pemeriksaan Apusan Basil Tahan Asam

Pemeriksaan Basil Tahan Asam pada sputum dilakukan jika ada kecurigaan tuberculosis berdasarkan bukti klinis (atau, jika tersedia segera, radiografi evaluasi). Pengumpulan spesimen baru di pagi hari disarankan untuk penderita dengan batuk produktif. Inhalasi saline hipertonik nebulisasi untuk meningkatkan produksi dahak harus dipertimbangkan untuk penderita yang tidak dapat menghasilkan sputum.

Untuk setidaknya tiga sampel dahak yang dikumpulkan dalam waktu 24 jam berbeda telah menjadi kebiasaan selama beberapa tahun terakhir. Menurut penelitian baru-baru ini, pengumpulan dahak ketiga hanya meningkatkan deteksi kasus sedikit. WHO baru-baru ini menyarankan pengumpulan "setidaknya dua sampel dahak". Selain spesimen sputum juga dapat dipertimbangkan pemeriksaan bronkoskopi dengan lavage, brushing, atau bahkan transbronchial biopsi dengan aspirasi jarum. Sampling bronkoskopi dapat meningkatkan diagnosis dan kecepatan penderita (Lam, 2016).

Ada dua prosedur yang biasa digunakan untuk pewarnaan tahan asam:

1. Metode Carbol-fuchsin yang menggunakan metode *Ziehl-Neelsen* dan *Kinyoun* (mikroskop langsung).
2. Prosedur fluorokrom menggunakan pewarna auramine-O atau auramine-rhodamine (mikroskop neon)

Pemeriksaan smear adalah prosedur cepat; dan memainkan peranan penting dalam diagnosis dini infeksi mikobakterium, hasil harus tersedia dalam waktu 24 jam setelah pengambilan spesimen. Namun, pemeriksaan apusan hanya memungkinkan diagnosis dugaan TB karena BTA pada apusan mungkin merupakan organisme tahan asam selain *Mycobacterium tuberculosis kompleks*. Hasil dari pemeriksaan BTA menurut skala International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD) :

- a. BTA Negatif : tidak ditemukan BTA/ 100 lapang pandang
- b. BTA Scanty : 1-9 BTA / 100 lapang pandang
- c. BTA 1+ : 10-99 BTA / 100 lapang pandang
- d. BTA 2+ : 1-10 BTA / 50 lapang pandang
- e. BTA 3+ : > 10 BTA / 20 lapang pandang

Pewarnaan didasarkan pada kandungan lipid yang tinggi dari dinding sel mikobakterium yang membuat bakteri ini tahan terhadap *decolorization* asam alkohol setelah pewarnaan primer. Pada pewarnaan Ziehl-neelsen dan Kinyoun, Basil Tahan Asam akan tampak merah pada pembesaran 1000x setelah *decolorization*. Sensitivitas dan spesifitas untuk pewarnaan Basil Tahan Asam masing-masing 70% dan 90%. Metode yang direkomendasikan untuk pewarnaan spesimen klinis BTA, termasuk *M.tuberculosis* dan *Non-tuberculous mycobacteria* adalah teknik fluoro-chrome meskipun metode *Ziehl-neelsen* atau pewarnaan *Kinyoun* dapat digunakan tetapi kurang sensitif. Pewarnaan gram tidak cukup untuk mendeteksi mikobakteri. Dalam banyak kasus, *Nontuberculous mycobacterium* terutama RGM sebaiknya menggunakan dekolorisasi lemah. Perlu dicatat bahwa apusan yang negatif, tidak berarti tidak adanya *Non-tuberculous mycobacteria* khususnya khunus RGM dari spesimen klinis (Griffith, Aksamit, Brown-Elliott, Catanzaro, Daley, Gordin, Holland, Horsburgh, Huitt, Iademarco, Iseman, Olivier, Ruoss, Von Reyn, et al., 2007; Lewinsohn et al., 2017; Reichman & Hershfield, 2000; Sebastian Kamps & Bourcillier, 2007).

Laboratorium klinis memainkan peran penting dalam diagnosis penyakit paru *Non-tuberculous mycobacteria* (Daley et al., 2020b). Diagnosis mikrobiologi yang akurat dan cepat untuk tuberculosis dan *non tuberculosis* mikobakteri dimulai dengan pengumpulan spesimen yang tepat dan transportasi yang cepat ke laboratorium. Spesimen untuk identifikasi mikobakteri dan uji kepekaan dapat dikumpulkan dari semua area tubuh. Petugas kesehatan harus diberikan pelatihan dengan baik, dan penderita diberikan instruksi yang jelas dan dipahami sepenuhnya untuk pengumpulan dahak dan spesimen lainnya untuk mendapatkan spesimen berkualitas dengan volume yang memadai, serta menghindari kontaminasi. Pengumpulan spesimen yang tidak tepat akan menyebabkan spesimen dapat terkontaminasi dengan *Non-tuberculous mycobacteria* lingkungan dari air keran, sehingga dapat merancukan pemeriksaan. Untuk memberikan hasil terbaik, beberapa spesimen terutama pernapasan, jika memungkinkan volume spesimen dahak harus lebih 5 ml (Daley et al., 2022; Griffith et al., 2007; Sharma & Upadhyay, 2020c; Somoskovi et al., 2002).

Pengumpulan spesimen harus menjaga keselamatan pekerja, diletakkan dalam wadah yang steril, anti bocor, sekali pakai, berlabel. Penggunaan media transport dan pengawet biasanya tidak direkomendasikan, jika pengiriman ke laboratorium tertunda lebih 1 jam, maka pendinginan sampel pada suhu 4°C atau lebih dianjurkan. Semakin

lama penundaan, semakin besar risiko pertumbuhan bakteri yang berlebihan. Pengobatan dengan antibiotik seperti makrolida dan kuinolon dapat mempengaruhi hasil pemulihan *Non-tuberculous mycobacteria* .

a. Pemrosesan spesimen

Untuk meminimalkan kontaminasi atau pertumbuhan yang berlebihan dari bakteri dan jamur, prosedur dekontaminasi harus dilakukan pada spesimen yang dikumpulkan dari bagian tubuh yang tidak steril. Spesimen dari bagian yang terkontaminasi, mengandung organisme lain yang dapat tumbuh lebih cepat daripada *Non-tuberculous mycobacteria* dan mengganggu pemulihan mikobakteri. Karena *Non-tuberculous mycobacteria* khususnya *rapidly growing Mycobacterium* (RGM), lebih sensitif terhadap dekontaminasi dari *M. tuberculosis*, proses dekontaminasi tidak boleh terlalu berat agar mikobakterium yang berpotensi ada tetap ada. Spesimen jaringan atau cairan dari tempat yang steril tidak memerlukan dekontaminasi. Jaringan harus digiling secara aseptis dalam saline fisiologis steril atau *bovine* albumin dan kemudian langsung diinokulasi ke media. Metode dekstruksi-dekontaminasi yang paling banyak menggunakan *N-acetyl-L-cystein-sodium hydroxide* (NALC-NaOH). Metode ini sering digunakan bersamaan dengan prosedur yang menggunakan asam oksalat 5% (pemrosesan ganda) untuk spesimen dari penderita dengan fibrosis kistik atau bronkiektasis yang dahaknya diketahui terkontaminasi dengan bakteri basil gram negatif (Griffith, Aksamit, Brown-Elliott, Catanzaro, Daley, Gordin, Holland, Horsburgh, Huitt, Iademarco, Iseman, Olivier, Ruoss, von Reyn, et al., 2007).

Klasifikasi Runyon untuk *Non-tuberculous mycobacteria* dapat digunakan sebagai pedoman saat memilih yang tes identifikasi yang harus dilakukan. Berdasarkan tingkat pertumbuhan dan produksi pigmen dalam gelap atau terang. Pada umumnya dianjurkan untuk melakukan tes kultur lebih dari 2 minggu untuk mikobakterium dengan pertumbuhan yang cepat, dan 3-4 minggu untuk mikobakterium dengan pertumbuhan yang lambat. Minimal jumlah koloni untuk dilakukan uji identifikasi adalah 20-25 koloni, jika jumlahnya sedikit disarankan membuat subkultur dan kemudian melakukan tes. Langkah utama untuk identifikasi adalah mengkonfirmasi basil tahan asam di koloni yang muncul, dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen atau Kinyoun (Velayati & Farnia, 2019).

Hal-hal penting yang perlu diperhatikan untuk identifikasi *Non-tuberculous mycobacteria* :

1. Pengambilan sampel dan transportasi ke laboratorium

2. Untuk spesimen pernapasan, individu tidak boleh berkumur dengan air ledeng/kran, atau cairan lain sebelum mengirimkan spesimen.
3. Gunakan wadah plastik sekali pakai yang steril dan anti bocor.
4. Hindari wadah yang berlapis lilin, dan swab tidak dianjurkan digunakan untuk isolasi mikobakteri,
5. Kumpulkan spesimen secara aseptis, kurangi kontaminasi dengan flora normal.
6. Kumpulkan spesimen awal sebelum terapi antimikroba dimulai.
7. Idealnya tiga spesimen pagi hari yang dikumpulkan pada tiga hari berturut-turut.
8. Untuk sputum yang diinduksi, saline hipertonik steril (3-5%) harus digunakan. Hindari kontaminasi dengan air reservoir pada nebulizer.
9. Dalam kasus spesimen BAL atau bilasan bronkus, bronkoskop yang digunakan harus steril, dibersihkan dengan disinfektan yang sesuai, bukan dengan air ledeng, serta menggunakan saline yang steril. (Lidokain yang digunakan selama prosedur BAL dapat menghambat pertumbuhan).
10. Saat mengumpulkan spesimen ekstrapulmoner, instrumen bedah harus dibersihkan dengan hati-hati, dan steril.
11. Formalin tidak boleh digunakan sebagai media transfer.
12. Setelah sampel disimpan dalam wadah, tidak boleh membuka kembali spesimen sebelum tiba di laboratorium untuk dikerjakan.
13. Spesimen disimpan pada suhu 2-8° C ( tidak dibekukan) jika transportasi tertunda lebih dari satu jam ; spesimen tidak boleh disimpan lebih dari satu minggu.

#### **Kultur**

Pemeriksaan kultur mikobakteri lebih sensitif dan spesifik untuk diagnosis tuberculosis dibandingkan pewarnaan BTA. Sensitivitas kultur sputum lebih besar dari 80% dan spesifisitas kultur telah dilaporkan setinggi 98%. Keterbatasan utama kultur adalah keterlambatan dalam memperoleh hasil (Lewinsohn et al., 2017).

Semua kultur untuk mikobakterium harus mencakup media padat dan cair untuk deteksi dan pertumbuhan mikobakteri. Setiap media kultur memiliki keuntungan masing-masing. Kultur pada media kaldu/cair akan menyebabkan pertumbuhan mikobakteri yang berlebihan, tetapi menghasilkan hasil yang lebih cepat dibandingkan media padat. Pengamatan koloni, tingkat pertumbuhan, mengenal ada tidaknya infeksi campuran ( bila terdapat lebih dari satu spesies

mikobakteri) dan kuantitas mikobakteri dapat dilihat pada media padat. Selain itu, media padat juga dapat berfungsi sebagai cadangan ketika media cair terkontaminasi.

Salah satu media cair yang paling banyak digunakan saat ini adalah dengan tabung indikator pertumbuhan mikobakteri non radiometrit *Mycobacterium Growth Indicator Tube* (MGIT) (*Becton Dickinson, Sparks, MD*) yang mana berisi kaldu *Middlebrook 7H9* yang dimodifikasi bersama sensor oksigen berbasis pendinginan menggunakan fluoresensi untuk mendeteksi pertumbuhan mikobakteri. Saat ada mikobakteri tumbuh, menghabiskan oksigen yang ada dalam tabung, indikator akan berpendar ketika terkena sinar ultra violet. Sensitivitas dan spesifisitas untuk deteksi *Non-tuberculous mycobacteria* adalah 98,8% dan 100%. Media padat yang direkomendasikan adalah yang terbuat dari telur, seperti agar Lowenstein-Jensen atau media seperti *Middlebrook 7H10* dan media *7H11*. Suhu optimal untuk inkubasi kebanyakan kultur *Non-tuberculous mycobacteria* diantara 28° C dan 37° C. Kebanyakan mikobakteri klinis yang tumbuh lambat, dapat tumbuh dengan baik pada suhu 35-37 °C. Bahkan saat menggunakan sistem berbasis cairan yang lebih baru (*BACTEC-460* atau *BACTEC MGIT-960*, *Becton Dickinson, Sparks, MD*), deteksi dan identifikasi *M. tuberculosis* membutuhkan waktu rata-rata dua minggu (Aksamit et al., 2014; Brown-Elliott & Wallace, 2002; Daley et al., 2020b, 2022; Griffith, Aksamit, Brown-Elliott, Catanzaro, Daley, Gordin, Holland, Horsburgh, Huitt, Iademarco, Iseman, Olivier, Ruoss, Von Reyn, et al., 2007; Olivier et al., 2003; Phillips & Von Reyn, 2001).

#### **2.4.3 Diagnosis Molekuler**

Adanya perbedaan dalam kepekaan antimikroba, membuat identifikasi tingkat spesies dari *Non-tuberculous mycobacteria* menjadi semakin penting secara klinis. Komunikasi antara dokter klinis dan tenaga laboratorium sangat penting untuk menentukan identifikasi dari *Non-tuberculous mycobacteria* ini. Penggunaan uji konvensional saja untuk identifikasi tidak memungkinkan karena banyak *Non-tuberculous mycobacteria* yang baru, dengan demikian metode yang terbaru, termasuk *high performance liquid chromatography* (HPLC) dan metode molekuler harus digunakan. Tes molekuler untuk diagnosis tuberculosis (TB) telah berpotensi menjangkau tiga juta orang dengan TB yang tidak terdiagnosis atau tidak dilaporkan setiap tahun dan untuk meningkatkan kualitas perawatan yang diterima penderita TB dengan memberikan hasil yang akurat dan cepat,

termasuk pengujian kerentanan obat yang cepat. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) telah merekomendasikan penggunaan tes amplifikasi asam nukleat molekuler (NAATs) untuk deteksi TB daripada mikroskop smear, karena mereka mampu mendeteksi TB lebih akurat, terutama pada penderita dengan penyakit *paucibacillary* dan pada orang yang hidup dengan HIV. Yang terpenting, beberapa tes yang didukung WHO ini dapat mendeteksi mutasi gen mikobakteri yang terkait dengan resistensi obat anti-TB, memungkinkan dokter untuk menyesuaikan pengobatan TB yang efektif (MacLean et al., 2020).

### 3. Uji Amplifikasi Asam Nukleat.

Algoritma diagnostik untuk menguji spesimen dari penderita yang diduga menderita TB harus menyertakan *Nucleic Acid Amplification Test* (NAAT). Pedoman dari CDC merekomendasi penggunaan NAAT TB bila terdapat tanda dan gejala yang mendukung diagnosis TB paru. Spesimen dengan BTA yang positif harus diprioritaskan untuk pengujian NAAT, karena sensitivitas NAAT meningkat pada spesimen ini. Kerugian dari deteksi NAAT, dalam spesimen klinis langsung adalah ketidakmampuan membedakan antara spesies *M. tuberculosis kompleks*. Selain ini, hasil NAAT yang positif tidak membedakan antara organisme hidup dan mati. Oleh karena itu, teknologi amplifikasi tidak dapat digunakan pada spesimen yang dikumpulkan dari penderita yang telah menerima obat antituberculosis selama lebih 7 hari atau telah menerima terapi tersebut dalam 12 bulan terakhir sebelum pengumpulan spesimen (Griffith et al., 2007; Sharma & Upadhyay, 2020.)

Ringkasan Metode laboratorium untuk identifikasi *Non-tuberculous mycobacteria* (Sharma & Upadhyay, 2020)

4. *High performance liquid chromatography* (HPLC), dengan prinsip Menganalisis jumlah atom karbon dalam asam mikolik yang ditemukan dalam dinding sel dari spesies *Non-tuberculous mycobacteria*. Keuntungan biaya pengujian sampel yang relatif murah. Keterbatasan masalah muncul dalam identifikasi rapidly-growing Mycobacterium/RGM, dan terbatas dalam kemampuan untuk beberapa kelompok *Non-tuberculous mycobacteria* kompleks.
5. PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) dengan prinsip analisis terhadap pola pita fragmen gen hsp65 terbatas yang mana hanya spesifik untuk beberapa jenis spesies *Non-tuberculous mycobacteria* Keuntungan peralatan khusus tidak diperlukan. Keterbatasan membutuhkan waktu lama, analisis terbatas pada

sebagian kecil genom, membutuhkan staf terlatih, adanya perbedaan urutan pada pola RFLP sehingga tidak dapat digunakan untuk identifikasi spesies khususnya spesies yang baru atau subspecies.

6. Probe asam nukleat dengan prinsip pengikatan ester dari probe gen DNA, gen 16S rRNA . Keuntungan hasil yang cepat, karena analisis dapat dilakukan secara langsung pada sampel klinis. Keterbatasannya identifikasi hanya dari *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. goodii*, *M. kansasii* memperlihatkan reaksi silang diantara spesies MAC dan spesies *Non-tuberculous mycobacteria* lainnya.
7. *Line Probe Assay* (LPA) dengan prinsip hibridisasi yang terbalik dari probe genetik. Keuntungannya adalah amplifikasi asam nukleat meningkatkan sensitivitas juga menggunakan biaya yang relatif murah. Untuk mengidentifikasi tuberculosis yang resisten terhadap beberapa obat (MDR-TB), WHO telah menyetujui *line probe assays* (LPA) untuk obat TB lini pertama (INH dan RIF) selama lebih dari sepuluh tahun (14). GenoTip MTB-DR plus (*Hain Lifesciences-Bruker*, Nehren, Jerman) dan Nipro NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA+MDRTB II (Osaka, Jepang) digunakan dalam tes ini. *Line probe assay* generasi baru lebih sensitif. Beberapa (seperti GenoTip MTBDRsl versi 2.0; *Hain Lifesciences-Bruker*) dapat menemukan mutasi terkait fluoroquinolones (FLQ) dan suntikan lini kedua, kanamisin, amikasin, dan kapreomisin, dan disarankan untuk membantu memulai pengobatan MDR-TB.
8. Sekuensing gen, dengan prinsip target gene sekuensing yang dikonversi gen *multilocus sequence typing* (MLST) analisis konsensus untuk identifikasi *Whole Genom Sequencing* (WGS) *Non-tuberculous mycobacteria* spesies. Berguna untuk identifikasi spesies *Non-tuberculous mycobacteria* pada kebanyakan spesies klinis, dapat mendeteksi mutasi yang sebelumnya tidak diketahui. Memberikan hasil yang lebih akurat dari TGS tunggal. Berguna dalam mempelajari wabah penyakit dan penularan *Non-tuberculous mycobacteria* , juga memberikan informasi mengenai virulensi dan resistensi terhadap antimikroba. Spesifitas bergantung pada pemilihan target gen, spesies *Non-tuberculous mycobacteria* yang berkerabat dekat mungkin tidak dapat teridentifikasi, membutuhkan peralatan yang mahal. Membutuhkan tenaga ahli terampil, analisis sekuensing tergantung dari database terbaru dan akurat.
9. MALDI-TOF MS (*Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass*), dengan prinsip metode analisis dari sekuensi protein. Keterbatasannya adalah biaya

yang mahal, tidak dapat membedakan antar subspecies *M. abcessus* dan kelompok *M. mucogenicum*, karena keterbatasan data

2.5 Kerangka Teori

