

Journal Information

**Author Information Pack** 

Archives Subm

Submissions Contact

Q

arleendevita 0

## **Editorial Team**

Home / Editorial Team

## **Editorial Team**

**Editor in Chief** 

#### **Husnun Amalia**

Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Indonesia

Academic profile: 🔷 🖨 🔞 🕦 🔞

JURNAL BIOMEDIKA DAN KESEHATAN Thief Journal Information

Author Information Pack

Archives

Submissions

Contact

arleendevita 0

#### **ML Edy Parwanto**

Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Indonesia

Academic profile: 👩 🖨 🔞 🔞

#### Associate Editor

#### **Nany Hairunisa**

Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Indonesia

Academic profile: 🙆 🖨 🔞 🔞

#### **Magdalena Wartono**

Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Indonesia

Academic profile:

#### Editorial Boards

#### **Adi Hidayat**

Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Indonesia

Academic profile: 🔷 🖨 🔞 🕦 😵

#### Laksmi Maharani

Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Indonesia

Academic profile: 🧖 🖨 🔞 🕦 😵

#### **Monica Dwi Hartanti**

2 of 4 8/19/2024, 7:31 PM

#### Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Indonesia





**Author Information Pack** 

Archives Submissions Contact

arleendevita 0

#### Raditya Wratsangka

Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Indonesia

Academic profile: 🙆 🖨 🔞 🔞

#### Siti Sugih Hartiningsih

STIKes Dharma Husada Bandung, Indonesia

Academic profile: 🔷 🖨 🔞 🕦 😵

#### **Dito Anugroho**

Universitas Muhammadiyah (Unismuh) Makassar, Indonesia

Academic profile: 👰 🖨 🔞 🔞

#### **Emad Yousif**

Al-Nahrain University

Academic profile: 🚭 🔞

Editorial Office

3 of 4 8/19/2024, 7:31 PM





171560 View My Stats

© Platform & Workflow by: Open Journal Systems
Designed by Material Theme

4 of 4





## Abstracting & Indexing

Home / Abstracting & Indexing

Jurnal Biomedika dan Kesehatan, with registered number ISSN: 2621-539X (print), ISSN: 2621-5470 (online) have been indexed on:

- 1. Google Scholar
- 2. Publons
- 3. Scilit Basel
- 4. WorldCat
- 5. CrossRef
- 6. Dimensions
- 7. Garuda
- 8. BASE (Bielefeld Academic Search Engine)
- 9. SINTA 3 (Science and Technology Index)





Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

171558 View My Stats

© Platform & Workflow by: Open Journal Systems
Designed by Material Theme

## Jurnal Biomedika dan Kesehatan

Jurnal Biomedika dan Kesehatan (J Biomedika dan Kesehat)

(pISSN: 2621-539X | eISSN: 2621-5470) is a peer-reviewed journal publish by Faculty of Medicine Universitas Trisakti. Starting in 2024, JBK is a fourthmonthly (March, July, November) medical journal that publishes new research findings on a wide variety of topics of importance to biomedical science and clinical practice (Biochemistry, Epidemiology, Health Profession, Occupational Therapy, medicine, Public Health).

Since 2019, JBK has been indexed and accreditated in the Science and Technology Index (SINTA) 3, by the Ministry of Research, Technology and Higher Education Indonesia.

Each manuscript will go through a review process.

Jurnal Biomedika dan Kesehatan



Journal Information

**Author Information Pack** 

Archives

Submissions Contact

ct

arleendevita 0



#### **Current Issue**

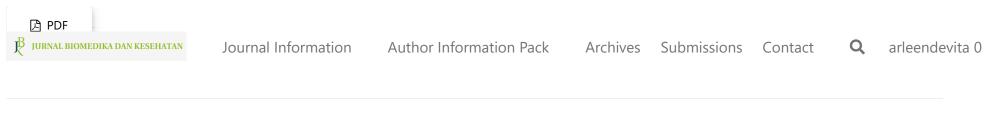
Vol. 7 No. 2 (2024)

Published: 2024-07-31

**Editorial** 

#### **Eyelid Infection (Blepharitis) Problem In The Elderly**

Husnun Amalia; Megawati Yulia Wina Pratiwi, Ita Tazkiatul Izzati Mustopa



#### Original Article

## The Relationship Between Spiritual Quotient And Stress Level Of S1 Students Of Medicine Faculty Of Muhammadiyah University Semarang Class Of 2021

Nurahmat Yanisa irfandi



#### Massive Tranfusion and Intensive Management after Hysterectomy in Placenta Accreta

Alfi Marita Trsitiarti, Eric Edwin Yuliantara



#### The Relationship Between Self-Esteem and Emotional Disorders in Adolescents at Senior High School

Rifat Adi Hendrianto, Erita Istriana



The Analysis of Work Fatigue and Proposed Improvement Using the Bourdon Wiersma Method and New Seven Tools

Vera Devani



## Dietary Arrangements and Exercise Activities were Associated with Glycemic Control in Diabetes Patients at Grogol Petamburan Subdistrict Public Health Center

Sirly Hidhayanti, Kartini Kartini



## The Effect of Preoperative Oral Glucose Administration on Blood Glucose Levels in Diabetes Mellitus Patients in General Anesthesia Surgery

Dhiny Yolanda Harahap, Achsanuddin Hanafie, Andriamuri Primaputra Lubis, Rina Amelia



#### Factors Affecting Stunted Status in Children Under-Two-Years at Karya Mulia Public Health Center 2023

Lala Namira Alifah Fahiratunnisa



## The Effect of Mung Bean Sprout Extract (Phaseolus radiatus L.) on Catalase Levels in Male Wistar Rats Induced Paraquat Herbicide

Angga Pria Sundawa, Reza Adityas Trisnasdi , Annisa Nurul Hikmah



#### MATOS-CARVALHO INDEX AS A COMPARISON TO OTHER DISCRIMINANT INDEXES IN INITIAL BETA THALASSEMIA

Jurnal Biomedika dan Kesehatan

Journal Information Author Information Pack Archives Submissions Contact

Q arleendevita 0

Mulyadi Ong, Niken Satuti Nur Handayani, Mulyati, Tri Ratnaningsih, Nur Imma Harahap, Indra Lesmana

PDF

#### Impact of Cotrimoxazole on the Development of Chicken Embryo Neural Tube

Alifia Shafanaura Pamuji



#### **DNase I Inactivation for Salivary DNA Preservation**

Nurul Sulviani



Case Report

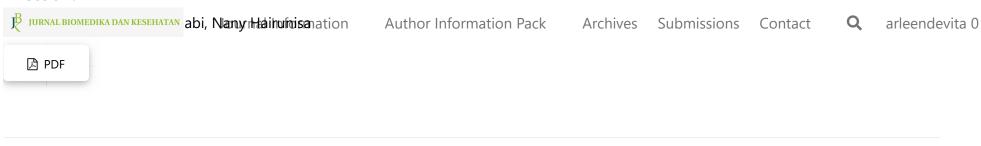
#### **Eyelid Dermoid Cyst: A Case Report**

Riani Witjaksana, Husnun Amalia, Nany Hairunisa, Erlani Kartadinata, Anggraeni Adhiwardan, Noviani Prasetyaningsih



Cholestatic Jaundice Due To Biliary Atresia With Cytomegalovirus And Malaria Infection: Blood Transfusion-Transmitted

#### Infection?



**Review Article** 

#### Emerging Threats in the Age of Pandemics: A Focus on COVID-19 and the Novel Sub-Variant EG 5 ("Eris"): Review Article

Raghda Alsayed, Hamsa Thamer, Seenar Hameed, Mohammed Kadhom, Nany Hairunisa, Husnun Amalia, Yasmine Mashabi, Dina Ahmed, Sarah Mahdi, Amani Husain, Israa Salman, Emad Yousif



#### Microbiology Examination for Diagnosis of Mycobacterium other than Tuberculosis (MOTT) Infection

Arleen Devita, Ade Dharmawan



View All Issues >



Journal Information

Author Information Pack

Archives Submissions Contact

arleendevita 0



Urnal Biomedika dan Kesehatan (JBK) is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

171562 View My Stats

© Platform & Workflow by: Open Journal Systems Designed by Material Theme

#### **BUKTI KORESPONDENSI**

#### [JBK] Editor Decision

arleen.devita/Inbox ☆





#### Husnun Amalia

From: husnun\_a@trisakti.ac.id To: arleen devita





Sun, Jul 7 at 8:23 AM 🏠



arleen devita:

We have reached a decision regarding your submission to Jurnal Biomedika dan Kesehatan, "PEMERIKSAAN PENUNJANG MIKROBIOLOGI UNTUK DIAGNOSIS INFEKSI MYCOBACTERIUM OTHER THAN TUBERCULOSIS (MOTT)".

Our decision is: Revisions Required



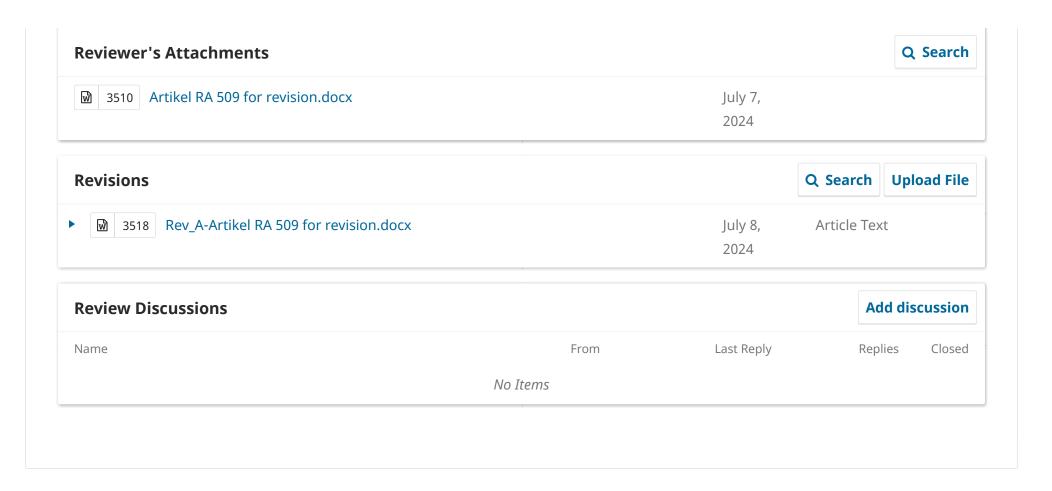
Jurnal Biomedika dan Kesehatan

Jl. Kyai Tapa No. 260 Kampus B, Grogol, DKI Jakarta 11440

Telp. (021) 5672731 | E-mail: jbiomedkes@trisakti.ac.id

## Jurnal Biomedika dan Kesehatan ← Back to Submissions 509 / **Devita et al.** / Microbiology Examination for Diagnosis of Mycobacterium other than Tuberculosis (MOTT) Infection Library Workflow **Publication Submission** Copyediting **Production Review** Round 1 **Round 1 Status** Submission accepted. **Notifications** [JBK] Editor Decision 2024-07-07 08:23 AM

1 of 2 8/19/2024, 7:28 PM



2 of 2



## JURNAL BIOMEDIKA DAN KESEHATAN (JOURNAL OF BIOMEDIKA AND HEALTH)

Vol. 7 No. 2 (2024) pp. \*\*\*-\*\*\*

e-ISSN: 2621-5470

#### **REVIEW ARTICLE**

## Microbiology Examination for Diagnosis of Mycobacterium other than Tuberculosis (MOTT) Infection

Pemeriksaan Penunjang Mikrobiologi untuk Diagnosis Infeksi Mycobacterium Other Than Tuberculosis (MOTT)

Arleen Devita<sup>1</sup> M, Ade Dharmawan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Microbiology Department, Faculty of Medicine, Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia <sup>2</sup>Microbiology Department, Faculty of Medicine dan Health Science, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia

Marleen.devita@trisakti.ac.id

ttps://doi.org/10.18051/JBiomedKes.2024.v7.\*\*\*-\*\*\*

#### **ABSTRACT**

Mycobacterium other than tuberculosis (MOTT) is an environmental bacterium that can be an opportunistic pathogen. These bacteria are resistant to various types of disinfectants and antibiotics because they have the characteristics of thick cell wall peptidoglycan that are rich in lipids and mycolic acid. There are now over a hundred MOTT species, some of which are known to infect people with immune system disorders such as chronic obstructive pulmonary disease (COPD), cystic fibrosis (CF), people with a history of tuberculosis (TB), HIV infection, or diabetes mellitus, but can also infect individuals with good immune systems. This type of mycobacterium can also cause nosocomial infections because it can contaminate hospital water as well as medical devices such as bronchoscopes, endoscopes, and dialysis fluids. Infections in humans originate from environmental exposure and spread through ingestion or inhalation. The clinical manifestations of MOTT infection can be pulmonary and extrapulmonary infections, including skin, soft tissue, the gastrointestinal system, bones, and joints, and disseminated with symptoms that are difficult to distinguish from a Mycobacterium tuberculosis infection. Therefore, it is necessary to conduct supporting examinations, in particular microbiological examinations, to detect and identify the species of MOTT and then determine the appropriate therapeutic management. The types of microbiological examination that can be performed are microscopic examination with acid-fast staining, culture, identification with biochemical tests, molecular tests, and immunodiagnostic tests.

**Keywords:** MOTT; Mycobacterium tuberculosis; microbiological examination.

#### **ABSTRAK**

Mycobacterium other than tuberculosis (MOTT) merupakan bakteri lingkungan yang dapat menjadi patogen oportunistik. Bakteri ini resisten terhadap berbagai jenis disinfektan dan antibiotik karena memiliki karakteristik dinding sel tebal peptidoglikan yang kaya lipid dan asam mikolat. Saat ini terdapat lebih dari ratusan spesies MOTT, dengan beberapa di antaranya diketahui dapat menginfeksi orang dengan gangguan sistem kekebalan tubuh seperti penyakit paru obstruksi kronik (PPOK), cystic fibrosis (CF), orang dengan riwayat penyakit tuberkulosis (TB), infeksi HIV atau diabetes melitus, tetapi juga dapat menginfeksi orang dengan sistem kekebalan tubuh yang baik. Mycobacterium jenis ini juga dapat menjadi patogen penyebab infeksi nosokomial karena dapat mengontaminasi air di rumah sakit dan juga alat medis seperti bronkoskop, endoskop dan cairan dialisis. Infeksi pada

manusia berasal dari pajanan lingkungan dan menyebar melalui ingesti atau inhalasi. Manifestasi klinis infeksi MOTT dapat berupa infeksi pulmonal dan ekstrapulmonal antara lain kulit, jaringan lunak, sistem gastrointestinal, tulang dan sendi serta diseminata dengan gejala yang sulit dibedakan dengan infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Oleh karena itu, perlu pemeriksaan penunjang khususnya laboratorium mikrobiologi untuk mendeteksi dan mengidentifikasi spesies dari MOTT untuk menentukan tatalaksana terapi yang sesuai. Jenis pemeriksaan mikrobiologi yang dapat dilakukan adalah pemeriksaan mikroskopik dengan pewarnaan tahan asam, biakan, identifikasi dengan uji biokimia, uji molekular dan uji imunodiagnostik.

Kata Kunci: MOTT; Mycobacterium tuberculosis; pemeriksaan mikrobiologi.

#### INTRODUCTION

Mycobacterium is a gram-positive, rod-shaped bacterium from the Mycobacteriaceae family, measuring 0.2-0.6  $\times$  1-10  $\mu$ m, is aerobic, does not form spores, and cannot move. This bacterium has a thick cell wall rich in lipids so its surface is hydrophobic. The cell wall structure requires a special stain, namely an acid-fast stain, to detect this bacteria. This also causes Mycobacterium to be resistant to various disinfectants and antibiotics. The characteristic of Mycobacterium that differentiates it from other disease-causing bacteria is its slower growth time, ranging from 7 days, some even up to 12 weeks.

Currently, there are more than 170 species of Mycobacterium with various distinctive virulence characteristics, with a third of them known to cause disease in humans and animals.<sup>5-7</sup> Based on epidemiology and their relationship to disease, there are 3 groups of Mycobacterium, namely Mycobacterium tuberculosis which causes tuberculosis, Mycobacterium leprae which causes leprosy and Mycobacterium other than tuberculosis (MOTT) or also known as atypical Mycobacterium and non-tuberculous Mycobacteria (NTM).<sup>4,7</sup>

Mycobacterium other than tuberculosis are bacteria in the surrounding environment such as soil, water, air, dust, plants, natural water sources, and drinking water including biofilms, wild animals, milk, and food products. Water contamination in hospitals, and medical equipment, for example, bronchoscopes, endoscopes, and dialysis fluids can cause MOTT colonization and nosocomial infections. So far, infection by Mycobacterium is widely known to be caused by Mycobacterium tuberculosis. Still, currently, MOTT can also cause disease with various clinical symptoms and is suspected to be the cause of iatrogenic infection so it has been determined to be a pathogen that causes nosocomial infections. Several MOTT species have been known to be opportunistic pathogens. Of all infections by Mycobacterium, 0.5-30% are caused by MOTT. As with infections in general, MOTT infections are also influenced by host factors and the pathogenicity of the causes which varies between species. Several risk factors that cause MOTT infection include conditions where the immune system is compromised (immunocompromised) such as chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pneumoconiosis, bronchiectasis, history of TB, post-radiotherapy fibrosis, chronic pulmonary aspiration, cystic fibrosis (CF), HIV infection, alcoholism, malignancy and diabetes mellitus (DM). 14,15

Mycobacterium other than tuberculosis can also cause disease in people with a good immune system (immunocompetent).<sup>4,16</sup> Transmission from human to human or animal to human generally does not occur unless caused by M. abscessus in CF patients, although animals can act as a MOTT reservoir. Infections in humans are thought to originate from environmental exposure with transmission via ingestion or inhalation.<sup>10,11</sup>

As with TB, infection with MOTT can have clinical manifestations in the form of pulmonary infections (such as pneumonia, lung abscess, and pleurisy) and extrapulmonary infections (lymphadenitis, skin, and soft tissue infections, meningitis, gastrointestinal infections, joint

infections, osteomyelitis, genital infections and infertility).<sup>5,17</sup> Based on the organs affected, clinical manifestations of MOTT infection are divided into 4 groups: chronic lung infections, lymphadenopathy, infections of the skin and soft tissues, and disseminated infections. The species of MOTT and the clinical disease it causes can be seen in Table 1.<sup>10</sup> Symptoms and clinical signs that arise in infection with MOTT are often difficult to distinguish clinically from Mycobacterium tuberculosis.<sup>10,14,18</sup>

Clinical	Species name
Lung disease	Mycobacterium avium complex (MAC), M. kansasii, M. abscessus, M. xenopi, M. simiae, M. malmoense
Limfadenitis cervico-facial	M. scrofulaceum, M. avium, M. malmoense, M. lentiflavum, M. bohemicum
Skin and soft tissue diseases	M. ulcerans, M. marinum, M. abscessus, M. fortuitum, M. haemophilum, M. chelonae
Bone and joint diseases	Mycobacterium avium complex (MAC), M. kansasii, M. abscessus, M. xenopi, M. goodii, M. terrae
Disseminated infections	M. avium, M. intracellulare, M. haemophilum, M. genavense

#### MICROBIOLOGICAL SUPPORTING EXAMINATION

Diagnosis of MOTT infection requires integrating clinical, radiological, and microbiological data. <sup>19,20</sup> Microbiological laboratory examination is one of the supporting examinations used to establish the diagnosis of MOTT infection. The examinations that can be performed are microscopic examination, culture, identification with biochemical tests, high-performance liquid chromatography (HPLC) methods, and molecular and immunodiagnostic tests. <sup>10,14,21</sup> To perform microbiological examination, good specimens are needed, so it is necessary to pay attention to the correct way to take specimens and it is important to avoid possible sources of contamination, especially from the environment. Specimens can be taken from almost all body parts according to the affected organs. MOTT infection in the lungs requires taking specimens from the respiratory tract in the form of sputum, bronchial aspirate, bronchoalveolar lavage (BAL), and lung biopsy. In contrast, for the diagnosis of extrapulmonary MOTT infection, specimens can be used in the form of tissue (lymph nodes, skin), wound aspirate, abscess, blood, body fluids (cerebrospinal fluid, pleural fluid, peritoneal fluid, pericardial fluid, joint fluid). <sup>2,4,9,14,20</sup>

Sputum specimen collection from the respiratory tract is required in one set, consisting of at least three sputum samples taken in the morning on different days. <sup>4,10</sup> Bronchoscopy procedures for BAL or bronchial lavage specimen collection are performed only if there is suspicion of pulmonary MOTT infection in patients who cannot produce sputum spontaneously or by induction. <sup>20</sup> Tissue specimens are taken to confirm the diagnosis of lymphadenitis by MOTT, namely by fine needle aspiration or lymph node excision, while skin biopsy is the best specimen needed to confirm the diagnosis of skin infection by MOTT. The histopathological examination should also be performed on skin biopsies to determine the presence of granulomatous inflammation caused by Mycobacteria infection and is needed for difficult cases. <sup>20</sup>

#### Specimen collection and transportation to the laboratory

In taking specimens, several things must be considered. Patients should not gargle with tap water until sputum is taken. The use of water for taking BAL specimens or bronchial lavage should use sterile saline. Likewise, the bronchoscope used for the bronchoscopy procedure must also be sterile. For taking extrapulmonary specimens, the surgical instruments used must also be sterile and should not be cleaned with tap water. Tissue specimens sent should be given a little sterile saline fluid to avoid drying and should not be given formalin when transferring the specimen to the

laboratory.<sup>22</sup> The specimens that have been taken must be placed in a sterile, leak-proof container and labeled, and should not be opened until they arrive at the laboratory. If there is a delay in delivering the specimen to the laboratory for more than 1 hour, the specimen should be stored at a temperature of 2-8°C. If possible, specimens should be taken before antibiotics are given.<sup>10</sup>

#### **Decontamination process**

The decontamination process must be carried out on sterile specimens after they arrive in the laboratory. The choice of disinfectant is important because MOTT is resistant to most disinfectants such as chlorine, benzalkonium chloride, cetylpyridinium chloride, quaternary ammonium compounds, phenol compounds, or glutaraldehyde-based disinfectants. The decontamination process must be carried out on specimens taken from non-sterile locations. This must be done to minimize contamination and the growth of other organisms such as bacteria and fungi so that they can inhibit the growth of Mycobacterium. Tissue specimens must be ground with sterile saline carried out aseptically and then planted into Mycobacterium selective media. The decontamination method that is widely used is using 0.25% N-acetyl-L-cysteine sodium hydroxide and 1% NaOH (NALC-NaOH).20 In sputum specimens taken from CF patients, the decontamination process is continued using 5% oxalic acid to minimize contamination by gram-negative rod bacteria such as Pseudomonas aeruginosa.<sup>24</sup>

#### Microscopic examination

The staining methods used for MOTT detection are acid-fast staining such as Ziehl-Neelsen (ZN) staining, Kinyoun, and fluorochrome staining using auramine and rhodamine observed with a fluorescent microscope. The number of AFB seen in microscopic examination reflects the number of AFB in clinical specimens. Microscopic examination has limited sensitivity and it is difficult to distinguish between MOTT and Mycobacterium tuberculosis with this examination. In general, the sensitivity of microscopic staining ranges from 20% to 80%.<sup>3</sup> ZN and auramine staining have higher sensitivity than Kinyoun, but when compared to culture, the sensitivity is still lower.<sup>21</sup> Based on previous studies, the sensitivity of ZN staining was 70% with a specificity of 90%, while fluorochrome staining had a sensitivity of 90% with a specificity of 84%.<sup>25</sup>

In histopathological examination, the sensitivity of fluorochrome and ZN staining was also low. This is due to the use of formalin in the fixation process. To obtain positive results, the number of bacteria (detection limit) required is relatively large, namely 104-105 bacteria/ml of sputum, so it is only effective in patients who already show clinical symptoms. Therefore, MOTT identification must still be determined by culture. Assessment of ZN and fluorochrome staining can be seen in Table 2.3,26

Table 2. Acid-resistant staining reporting<sup>3,26</sup>

Number of visible BTAs with ZN (1000x magnification)	Number of BTAs visible with fluorochrome staining (450x magnification)	Reporting
0	0	Invisible BTA
1-2/300 LP	1-2/70 LP	Duspicious, suggestion: repeat the test with a new specimen
1-9/100 LP	2-18/50 LP	1+
1-9/10 LP	4-36/10 LP	2+
1-9/LP	4-36/LP	3+
> 9/LP	> 36/LP	4+
LP: Field of view		

#### **CULTURE**

Culture is considered more effective than staining because it can detect Mycobacterium in small amounts (10-100 Mycobacterium/ml specimen). Mycobacterium cultures can be grown on solid and liquid media. Solid media is considered to be able to identify accurately because it can observe colony morphology, growth rate, species categorization based on pigmentation, and the number of organisms growing. While liquid media can provide faster results and increase Mycobacterium recovery. The solid media used are media with egg ingredients such as Lowenstein-Jensen (LJ) agar or media with agar ingredients such as Middlebrook 7H10 and 7H11. Media with this agar ingredient can also be used for sensitivity testing. The liquid media that is widely used is Middlebrook 7H9 with the Mycobacterium growth indicator tube (MGIT) system. This system detects bacterial growth with a fluorescence quenching-based oxygen sensor. In liquid media, antibiotics are added to suppress the growth of contaminating bacteria and fungi. The antibiotics added were polymyxin B 50 U/ml, amphotericin B 5  $\mu$ g/ml, nalidixic acid 20  $\mu$ g/ml, trimethoprim 5  $\mu$ g/ml and azlocillin 10  $\mu$ g/ml. Nutrients such as albumin, dextrose, and oleic acid were also added to the media to increase the rate of bacterial growth.

The conventional method with solid media takes 6-8 weeks to detect bacterial growth and is the gold standard examination. Meanwhile, culture with liquid media has high sensitivity because it can detect growth in 1-2 weeks. The sensitivity of MOTT culture increases by 15% when culture is carried out on solid media with liquid media. The results of the culture examination can be issued after 6 weeks if no growth is detected in liquid media and 8 weeks of incubation in solid media.

The optimal incubation temperature for Mycobacterium culture is 28-37°C with a temperature variation of 27-45°C. <sup>10,20</sup> Exceptions for cultures performed from skin specimens, soft tissues, and joint fluids that require a lower optimal incubation temperature, so additional inoculation is needed on 1 set of media incubated at 28-300C in addition to incubation at 35-37°C. Most MOTT grow within 2-3 weeks. <sup>27</sup> There is a group of MOTT that grows slowly (slow growers) which is within 8-12 weeks and a group of rapid growers which is within 7 days. <sup>3</sup>

In cases of MOTT isolated from patients who do not show disease progression or MOTT isolation is suspected due to environmental contamination, the microbiological diagnosis of MOTT is confirmed if there is more than one positive sputum culture and the same MOTT species (or subspecies in the case of M. abscessus) must be found in two or more sputum cultures. <sup>20</sup> The diagnosis can also be confirmed if one positive culture is found in bronchial lavage or BAL specimens, positive cultures in lungs, or transbronchial biopsies accompanied by a picture of granulomatous inflammation. <sup>19</sup>

#### **MOTT IDENTIFICATION**

Identification of MOTT to the species level is important to determine whether the isolate obtained is clinically significant in addition to determining the right therapy because of differences in antimicrobial sensitivity for each species.<sup>20</sup> So far, identification of Mycobacterium has used phenotype tests. Phenotype tests were used to look at growth rate, pigment formation, and biochemical tests.<sup>21</sup> Based on growth rate and pigment formation, Runyon classifies MOTT into 4 phenotype groups known as the Runyon classification which can be seen in Table 3.3 Categories I-III were classified as slow-growing MOTT.

Runyon Description **Group Name** Classification Photochromogenic MOTT colonies form pigments when exposed to light and take more than 7 days to grow on solid media Ш Skotochromogen MOTT colonies form pigments in dark or light conditions and take more than 7 days to grow on solid media MOTT colonies that do not form pigment and take more than 7 Ш Nonphotochromogens days to grow on solid media IV Rapid growers MOTT colonies grow in less than 7 days on solid media

Table 3. Runyon Classification<sup>3</sup>

#### **Biochemical Tests**

Biochemical tests used to identify MOTT include niacin production test, nitrate reduction, and p-nitrobenzoic acid (PNB) test. The PNB test is an important test to differentiate MOTT from Mycobacterium tuberculosis. In this test, MOTT bacteria will grow on growth media containing PNB because they are resistant to PNB, while Mycobacterium tuberculosis will be inhibited in growth. Several studies have shown that identification using biochemical tests takes a long time, namely 7-28 days, thus slowing down the establishment of the diagnosis. Hochemical tests require a complicated process and currently have been abandoned because they are not useful for definite species identification, especially with the emergence of new MOTT species. Household in the process and currently with the emergence of new MOTT species.

#### High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) METHOD

Identification of MOTT can also be determined using the HPLC method.28 The HPLC method is a test that analyzes the number of carbon atoms in mycolic acid compounds found in the walls of MOTT species, but identification using this method has now been abandoned because it is not specific enough to identify MOTT species that are rapid growers.<sup>10</sup>

#### **Molecular METHOD**

Since the last 20 years after the molecular era emerged, many new species have been identified. Molecular tests are superior to conventional tests such as biochemical tests and HPLC which are currently abandoned for MOTT identification. Molecular tests are also used for the detection of MOTT that cannot be cultured or performed on patients with high suspicion of MOTT infection but negative culture results. 10 Currently, the most widely used MOTT identification is the molecular method because it can identify MOTT subspecies levels. There are several molecular tests for MOTT detection and identification, including line probe assay (LPA), DNA probes, polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), and DNA sequencing as well as matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. 14,21,28 The results of the examination using the molecular method can provide fast and accurate results in less than 24 hours. 21

#### **DNA Probe**

The basis of this technique is the hybridization of a specific DNA probe with the 16s rRNA of Mycobacterium to form a stable DNA-RNA hybrid.<sup>10</sup> Probes are commercially available for rapid identification of several MOTT species. One example of a readily available DNA probe is Gen-Probe which can be used to detect Mycobacterium species such as M. tuberculosis complex, M. intracellulare, M. avium, M. kansasii, M. avium complex, M chelonae, M fortutium, and M. gordonae.<sup>21</sup> This test has the advantage that it can be performed directly on clinical samples so that the results can be obtained quickly, however, there is a possibility of cross-reaction between Mycobacterium species and is limited to identifying frequently isolated MOTT species only.<sup>10,28</sup>

#### Line Probe Assays (LPA)

The basis of this technique is the reverse hybridization of amplified DNA products with complementary probes. The DNA targets used are the 16S-23S rDNA spacer region and 23S rDNA. This technique uses nitrocellulose DNA membrane strip technology to detect and identify the genus and species of Mycobacterium. The stages of this technique are amplification of DNA products with polymerase chain reactions (PCR), hybridization of DNA products on the strip, and detection and interpretation of results. The time required until detection is approximately 6 hours. There are currently 3 commercially available DNA strip tests, namely Inno-LiPA Mycobacteria, GenoType Mycobacterium common Mycobacteria (GenoType CM), and GenoType additional species (GenoType AS). 4

The Inno-LiPA Mycobacteria kit is designed to identify 17 different species, namely M. tuberculosis complex, Mycobacterium avium, Mycobacterium intracellulare, Mycobacterium kansasii, Mycobacterium chelonae, Mycobacterium gordonae, Mycobacterium xenopi, Mycobacterium scrofulaceum, M. avium complex and can differentiate the three subgroups of M. chelonae and M. kansasii. The GenoType CM kit has probes to detect 15 Mycobacterium species, while the GenoType AS kit has an additional 16 MOTT species. The advantage of this test is that it can be performed directly on liquid cultures of primary isolates without waiting for the results of cultures on solid media. The LPA method is considered very precise, fast, and consistent with a sensitivity of 96%, however, there are shortcomings because it is limited to identifying only frequently isolated MOTT species. The species of the sensitivity of 96% and consistent with a sensitivity of 96% are shortcomings.

## **DNA Amplification, Sequencing Analysis and Whole Genome Sequencing** (WGS)

PCR technique is a DNA amplification technique followed by amplicon sequence analysis. Several DNA targets can be used, including 65-kD heat shock protein (hsp65), 16s rRNA gene, 23s rRNA gene, rpoB gene, and internal transcribed spacer (ITS) DNA sequence. Multi-locus sequencing technique is the choice because MOTT species are identified more precisely. Among the several DNA targets, the 16s rRNA gene is the most widely used because this gene is owned by all bacterial species and there are conserved and variable regions in it which make this gene an ideal target for taxonomic purposes up to the subspecies level. Page 120 amplicon sequence analysis.

The amplified DNA fragments can be detected by various techniques based on probe hybridization, for example, PCR restriction fragment length polymorphism analysis (PRA). After the amplification process, it is continued with amplicon sequencing analysis of DNA fragments to identify Mycobacterium. The PRA technique currently widely used for MOTT identification is based on PCR of a 441-base pair sequence of the 65-kD hsp65 gene followed by restriction enzyme digestion. The DNA fragments are observed on an electrophoresis gel and the resulting pattern is used for species identification. The size of the restriction fragments is usually species-specific. Identification of the organism is done by comparing the resulting nucleotide sequence with an

existing reference sequence.<sup>13</sup> The problem is when the tested isolate does not match the available reference sequence database. The result will be reported as "closely related to a given species," depending on the sequence difference between the unknown isolate and the available database.

The sensitivity of this method in distinguishing between MOTT and Mycobacterium tuberculosis is 99.2%.<sup>13</sup> This PRA technique provides relatively fast results (1-2 days) and can identify MOTT species without a hybridization process and is not limited to the availability of specific probes.<sup>29</sup> DNA amplification examination followed by sequencing analysis is the most widely used examination today to detect MOTT species that cannot be grown in culture media.<sup>30,31</sup> The disadvantage is that new species that emerge may also have 16s rRNA gene sequences that are almost similar to existing ones. For example, the difference between M. szulgai and M. malmoense lies in only 2 nucleotides, but in fact, the two species are very different. In addition, there is no clear limit regarding the difference in nucleotide sequences in 1 strain to identify Mycobacterium. Whole genome sequencing (WGS) is the gold standard examination for identifying various MOTT species and is useful in determining the distribution of MOTT species based on geographic location to transmission in the event of outbreaks related to healthcare-associated infections (HAIs). WGS can also provide information on virulence factors and MOTT resistance to various antimicrobials. The drawback is that this test is expensive so it is not available for routine diagnostics in developing countries and requires expert personnel to perform it.<sup>10,14</sup>

## Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS)

There is one method used to identify and differentiate Mycobacterium species, especially new species, namely MALDI-TOF combined with mass spectrometry. This technology is designed to produce a protein 'fingerprint' based on ions absorbed from the cell surface by measuring the ratio of mass to charge. The tool software will automatically analyze the data and produce a profile to be compared with a reference database of spectra in identifying all common MOTT species and some uncommon MOTT species. <sup>28</sup>

This method can identify MOTT directly from liquid and solid media, is easy to do, fast, has good reliability with the ability to identify as many as 160 MOTT species, and can differentiate to the subspecies level. 10,20,28 Another advantage of this technique is that it can reduce the risk of infection by Mycobacterium. The specificity of this method is 98.6% and the results of the examination can be obtained in just 1-2 hours. 14 The limitations of this technique are that it is not yet available in laboratories in Indonesia because of its expensive price, and the limited reference database. Like other techniques, this test cannot accurately identify closely related MOTT species. 10

#### **IMMUNOCHROMATOGRAPHY TEST**

Rapid and accurate identification of Mycobacterium can help in the management of MOTT infection cases. An immunochromatography test with MPT64 TB antigen kit can help in the rapid detection and differentiation of MPT64 antigen in Mycobacterium tuberculosis and MOTT isolates. Its sensitivity is 99% with 100% specificity. Another advantage of this kit is that it is easy to perform and can be done directly on positive cultures. 19,21

#### CONCLUSION

Mycobacterium other than tuberculosis (MOTT) is an environmental bacteria that can be found in soil and water and can cause disease in humans with various clinical manifestations. Clinically, the symptoms of the disease it causes resemble infection by Mycobacterium tuberculosis. Identification of the species level is needed to determine the appropriate therapy. Supporting examinations that can be used include microbiological examinations. Several microbiological

examinations that can be used to detect and/or identify MOTT species are microscopic examination, culture, identification with biochemical tests, high-performance liquid chromatography (HPLC) methods, and molecular and immunodiagnostic tests. Molecular techniques that are widely used include DNA probes, LPA, DNA amplification followed by sequencing analysis, WGS, and MALDI-TOF-MS.

#### **ACKNOWLEDGEMENT**

None

#### **AUTHORS CONTRIBUTION**

Author contributed to the manuscript writing and to the improvement of the script.

#### **FUNDING**

Funding is covered by author.

#### **CONFLICT OF INTEREST**

Competing interests: No relevant disclosures.

#### **REFERENCES**

- 1. Murray PR. Murray's basic medical microbiology foundations and clinical cases. 2nd ed: Elsevier; 2024.
- 2. Ryan KJ. Mycobacteria. In: Ryan KJ, Ahmad N, Alspaugh JA, et al., eds. Sherris & Ryan's Medical microbiology. 8th ed: McGraw Hill; 2022:1010-43.
- 3. Lehman DC. Mycobacterium tuberculosis and non tuberculous mycobacteria. In: Mahon CR, Lehman DC, eds. Textbook of diagnostic microbiology. 7th ed: Elsevier; 2023:570-96.
- 4. Cowman S, Ingen Jv, Griffith DE, et al. Non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease. Eur Respir J. 2019;54:1900250. doi: 10.1183/13993003.00250-2019.
- 5. To K, Cao R, Yegiazaryan A, et al. General overview of nontuberculous Mycobacteria opportunistic pathogens: Mycobacterium avium and Mycobacterium abscessus. J Clin Med. 2020;9:1-24. doi: 10.3390/jcm9082541.
- 6. Kołodziej M, Puls D, Puls J, et al. Mycobacteria other than tuberculosis prevalence, symptoms, diagnostics and treatment. Pomeranian J Life Sci. 2023;69(3):48-51. doi: 10.21164/pomjlifesci.933.
- 7. Katoch VM. Diagnosis & management of infections due to non-tuberculous mycobacteria in developing countries: Looking ahead. Indian J Med Res. 2019;150:429-31. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_2096\_19.
- 8. Falkinham JO 3rd. Environmental sources of nontuberculous mycobacteria Clin Chest Med. 2015;36(1):35-41. doi: 10.1016/j.ccm.2014.10.003.
- 9. Naskar B, Bakshi S, Mandal T. Management of infections with Mycobacterium other than tuberculosis as a complication of surgical procedures. Int Surg J. 2020;7(7):2275-82. DOI: http://dx.doi.org/10.18203/2349-2902.isj20202835.
- 10. Sharma SK, Upadhyay V. Epidemiology, diagnosis & treatment of non-tuberculous mycobacterial diseases. Indian J Med Res. 2020;152:185-226. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_902\_20.
- 11. Johnson MM, Odell JA. Nontuberculous mycobacterial pulmonary infections. J Thorac Dis 2014;6(3):210-20. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.12.24.
- 12. Ahmeda I, Tiberib S, Farooqi J, et al. Non-tuberculous mycobacterial infections—A neglected and emerging problem. Int J Infect Dis. 2020;92:S46-50. doi: 10.1016/j.ijid.2020.02.022.

- 13. Baris A, Bayraktar B. Identification of the Mycobacterial strains isolated from clinical specimens using hsp65 PCR-RFLP method. Med Bull Sisli Etfal Hosp. 2020;54(3):364-70. doi: 10.14744/SEMB.2019.66587.
- 14. Gopalaswamy R, Shanmugam S, Mondal R, et al. Of tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial infections a comparative analysis of epidemiology, diagnosis and treatment. J Biomed Sci.;27:1-17. doi: 10.1186/s12929-020-00667-6.
- 15. Jeon D. Infection Source and Epidemiology of Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease. Tuberc Respir Dis. 2019;82:94-101. doi: 10.4046/trd.2018.0026.
- 16. Mertaniasih NM, Kusumaningrum D, Koendhori EB, et al. Nontuberculous Mycobacterial species and Mycobacterium tuberculosis complex coinfection in patients with pulmonary tuberculosis in Dr. Soetomo Hospital, Surabaya, Indonesia. Int J Mycobacteriol. 2017;6:9-13.
- 17. Gangania PS, Bisht D, Singh VA. Current concepts of diagnosis for mycobacterial infections in female genital tract. Indian J Microbiol Res. 2017;4(1):7-13. DOI: 10.18231/2394-5478 .2017.0002
- 18. Ali N. Nontuberculous mycobacteria (NTM) and its diagnosis. Mycobact Dis No:10000285. 2022;12(3):285. DOI: 10.352481/2161-1068.22.12.285.
- 19. Juita LR, Fauzar. Diagnosis dan tatalaksana penyakit paru nontuberculous mycobacteria. J Kesehat Andalas. 2018;7:141-5. DOI: http://dx.doi.org/10.25077/jka.v7io.858
- 20. Daley CL, Laccarino JM, Lange C, et al. Treatment of nontuberculous Mycobacterial pulmonary disease: An official ATS/ERS/ESCMID/IDSA clinical practice guideline. Clin Infect Dis. 2020;71(4):e1-e36. doi: 10.1093/cid/ciaa1125.
- 21. Maurya AK, Nag VL, Kant S, et al. Recent methods for diagnosis of nontuberculous Mycobacteria infections: relevance in clinical practice. Biomed Biotechnol Res J. 2017;1:14-8. DOI: 10.4103/bbrj.bbrj 18 17.
- 22. Martin I, Pfyffer GE, Parrish N. Mycobacterium: General characteristics, laboratory processing, staining, isolation, and detection procedures In: Carroll KC, Pfaller MA, Karlowsky JA, et al, eds. Manual clinical microbiology. 13th ed: ASM Press; 2023:533-40.
- 23. Weeks JW, Segars K, Guha S. The research gap in Non-tuberculous Mycobacterium (NTM) and reusable medical devices. Front Public Health. 2020;8(399). doi: 10.3389/fpubh.2020.00399.
- 24. Stephenson D, Perry A, Nelson A, et al. Decontamination strategies used for AFB culture significantly reduce the viability of Mycobacterium abscessus Complex in sputum samples from patients with cystic fibrosis. Microorganisms. 2021;9(8):1597. doi:10.3390/microorganisms9081597.
- 25. Suryawati B, Saptawati L, Putri AF, et al. Sensitivitas metode pemeriksaan mikroskopis fluorokrom dan Ziehl-Neelsen untuk deteksi Mycobacterium tuberculosis pada sputum. Smart Med J. 2018;1(2):56-61. DOI: https://doi.org/10.13057/smj.v1i2.28704.
- 26. Tille PM. Mycobacteria and other bacteria with unusual growth requirements. In: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, ed. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 15th ed: Elsevier; 2022.
- 27. Zhou D, Zhu N, Li S, et al. Characteristics and comparison of rapidly growing and slowly growing nontuberculous Mycobacterial pulmonary disease. Int J Mycobacteriol. 2023;12:324-31. doi: 10.4103/ijmy.ijmy 145 23.
- 28. Sam AS, Ninan MM, Ranjani R, et al. Nontuberculous mycobacteria clinical and laboratory diagnosis: experiences from a TB endemic country. Future Sci. OA. 2020;6(9):FSO612. doi: 10.2144/fsoa-2020-0023.
- 29. Kunduracılar H. Identification of mycobacteria species by molecular methods. Int Wound J. 2020;17:245-50. doi: 10.1111/iwj.13238.
- 30. Hashemzadeh M, Dezfuli AA, Khosravi AD, et al. Molecular identification of non-tuberculous mycobacterial species isolated from extrapulmonary samples using real-time PCR and rpoB sequence analysis. AMB Express 2023;13:43. doi: 10.1186/s13568-023-01553-8.

31. Peixoto AdS, Montenegro LML, Lima AS, et al. Identification of nontuberculous mycobacteria species by multiplex real-time PCR with high-resolution melting. Rev Soc Bras Med Trop. 2020;53:e20200211. doi: 10.1590/0037-8682-0211-2020.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 International License

# PEMERIKSAAN PENUNJANG MIKROBIOLOGI UNTUK DIAGNOSIS INFEKSI MYCOBACTERIUM OTHER THAN TUBERCULOSIS (MOTT)

by dr.Arleen

**Submission date:** 21-Aug-2024 09:52AM (UTC+0700)

**Submission ID:** 2361190618

File name: Rev\_A-Artikel\_RA\_509\_for\_revision.docx (85.02K)

Word count: 4650

Character count: 31608

#### PEMERIKSAAN PENUNJANG MIKROBIOLOGI UNTUK DIAGNOSIS INFEKSI MYCOBACTERIUM OTHER THAN TUBERCULOSIS (MOTT)

#### Arleen Devita<sup>1\*</sup>, Ade Dharmawan<sup>2</sup>

Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia

Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas

Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia

\*Email: arleen.devita@trisakti.ac.id

#### ABSTRAK

Mycobacterium other than tuberculosis (MOTT) merupakan bakteri lingkungan yang dapat menjadi patogen oportunistik. Bakteri ini resisten terhadap berbagai jenis disinfektan dan antibiotik karena memiliki karakteristik dinding sel tebal peptidoglikan yang kaya lipid dan asam mikolat. Saat ini terdapat lebih dari ratusan spesies MOTT, dengan beberapa di antaranya diketahui dapat menginfeksi orang dengan gangguan sistem kekebalan tubuh seperti penyakit paru obstruksi kronik (PPOK), cystic fibrosis (CF), orang dengan riwayat penyakit tuberkulosis (TB), infeksi HIV atau diabetes melitus, tetapi juga dapat menginfeksi orang dengan sistem kekebalan tubuh yang baik. Mycobacterium jenis ini juga dapat menjadi patogen penyebab infeksi nosokomial karena dapat mengontaminasi air di rumah sakit dan juga alat medis seperti bronkoskop, endoskop dan cairan dialisis. Infeksi pada manusia berasal dari pajanan lingkungan dan menyebar melalui ingesti atau inhalasi. Manifestasi klinis infeksi MOTT dapat berupa infeksi pulmonal dan ekstrapulmonal antara lain kulit, jaringan lunak, sistem gastrointestinal, tulang dan sendi serta diseminata dengan gejala yang sulit dibedakan dengan infeksi Mycobacterium tuberculosis. Oleh karena itu, perlu pemeriksaan penunjang khususnya laboratorium mikrobiologi untuk mendeteksi dan mengidentifikasi spesies dari MOTT untuk menentukan tatalaksana terapi yang sesuai. Jenis pemeriksaan mikrobiologi yang dapat dilakukan adalah pemeriksaan mikroskopik dengan pewarnaan tahan asam, biakan, identifikasi dengan uji biokimia, uji molekular dan uji imunodiagnostik.

Kata kunci: MOTT; Mycobacterium tuberculosis; pemeriksaan mikrobiologi

#### MICROBIOLOGY EXAMINATION FOR DIAGNOSIS OF MYCOBACTERIUM OTHER THAN TUBERCULOSIS (MOTT) INFECTION

#### Arleen Devita<sup>1\*</sup>, Ade Dharmawan<sup>2</sup>

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Universitas Trisakti, Jakarta,
Indonesia

Department of Microbiology, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia

\*Email: arleen.devita@trisakti.ac.id

#### **ABSTRACT**

Mycobacterium other than tuberculosis (MOTT) is an environmental bacterium that can be an opportunistic pathogen. These bacteria are resistant to various types of disinfectants and antibiotics because they have the characteristics of thick cell wall peptidoglycan that is rich in lipids and mycolic acid. There are now over a hundred MOTT species, some of which are known to infect people with immune system disorders such as chronic obstructive pulmonary disease (COPD), cystic fibrosis (CF), people with a history of tuberculosis (TB), HIV infection, or diabetes mellitus, but can also infect individuals with good immune systems. This type of mycobacterium can also cause nosocomial infections because it can contaminate hospital water as well as medical devices such as bronchoscopes, endoscopes, and dialysis fluids. Infections in humans originate from environmental exposure and spread through ingestion or inhalation. The clinical manifestations of MOTT infection can be pulmonary and extrapulmonary infections, including skin, soft tissue, the gastrointestinal system, bones, joints and disseminated with symptoms that are difficult to distinguish from a Mycobacterium tuberculosis infection. Therefore, it is necessary to conduct supporting examinations, in particular microbiological examinations, to detect and identify the species of MOTT and then determine the appropriate therapeutic management. The types of microbiological examination that can be performed are microscopic examination with acid-fast staining, culture, identification with biochemical tests, molecular tests, and immunodiagnostic tests.

**Keywords:** MOTT; Mycobacterium tuberculosis; microbiological examination

#### PENDAHULUAN

Mycobacterium merupakan bakteri gram positif berbentuk batang famili Mycobacteriaceae, berukuran 0.2-0.6 × 1-10 µm, bersifat aerob, tidak membentuk spora dan tidak dapat bergerak.<sup>1,2</sup> Bakteri ini memiliki dinding sel yang tebal yang kaya akan lipid sehingga permukaannya bersifat hidrofobik. Struktur dinding sel tersebut memerlukan pewarnaan khusus yaitu pewarnaan tahan asam untuk mendeteksi bakteri ini. Hal ini juga yang menyebabkan Mycobacterium resisten terhadap berbagai disinfektan dan antibiotik.<sup>3</sup> Karakteristik dari Mycobacterium yang membedakan dari bakteri penyebab penyakit lainnya adalah waktu tumbuhnya yang lebih lambat, berkisar 7 hari bahkan ada yang mencapai 12 minggu.<sup>4</sup>

Saat ini, terdapat lebih dari 170 spesies *Mycobacterium* dengan berbagai karakteristik virulensi yang khas dengan sepertiga diantaranya diketahui dapat menyebabkan penyakit pada manusia dan hewan.<sup>5-7</sup>Berdasarkan epidemiologi dan hubungannya dengan penyakit, terdapat 3 kelompok Mycobacterium yaitu *Mycobacterium tuberculosis* yang menyebabkan penyakit tuberkulosis, *Mycobacterium leprae* yang menyebabkan penyakit kusta dan *Mycobacterium other than tuberculosis* (MOTT) atau dikenal juga dengan sebutan Mycobacterium atipikal dan non-tuberculous Mycobacteria (NTM).<sup>4,7</sup>

Mycobacterium other than tuberculosis merupakan bakteri yang ada di lingkungan sekitar seperti tanah, air, udara, debu, tumbuhan, sumber air alami dan air minum termasuk biofilm, hewan liar, susu dan produk makanan. 8-10 Kontaminasi air di rumah sakit, alat medis misalnya bronkoskop, endoskop, dan cairan dialisis dapat menyebabkan kolonisasi MOTT dan terjadi infeksi nosokomial. Selama ini, infeksi oleh Mycobacterium yang dikenal luas disebabkan oleh Mycobacterium tuberculosis, akan tetapi saat ini, MOTT juga dapat menyebabkan penyakit dengan berbagai gejala klinis dan diduga menjadi penyebab infeksi iatrogenik sehingga ditetapkan menjadi patogen penyebab infeksi nosokomial. 9,12 Beberapa spesies MOTT telah diketahui sebagai patogen oportunistik. Dari keseluruhan infeksi oleh Mycobacterium, sebesar 0,5-30% diantaranya disebabkan oleh MOTT. Sama halnya dengan infeksi pada umumnya, infeksi MOTT juga dipengaruhi oleh faktor

pejamu dan patogenisitas penyebab yang bervariasi antar spesies. Beberapa faktor risiko yang menyebabkan terjadinya infeksi MOTT antara lain kondisi terganggunya sistem kekebalan tubuh (*immunocompromised*) seperti penyakit paru obstruksi kronik (PPOK), pneumokoniosis, bronkiektasis, riwayat penyakit TB, post-radioterapi fibrosis, aspirasi paru kronis, *cystic fibrosis* (CF), infeksi HIV, alkoholisme, keganasan dan diabetes melitus (DM). <sup>14,15</sup>

Mycobacterium other than tuberculosis juga dapat menyebabkan penyakit pada seseorang dengan sistem kekebalan tubuh yang baik (imunokompeten) sekalipun.<sup>4,16</sup> Transmisi dari manusia ke manusia atau dari hewan ke manusia umumnya tidak terjadi kecuali disebabkan oleh *M. abscessus* pada pasien CF, walaupun hewan dapat berperan sebagai *reservoir* MOTT. Infeksi yang terjadi pada manusia diduga berasal dari pajanan lingkungan dengan mode transmisi melalui ingesti atau inhalasi.<sup>10,11</sup>

Sama halnya dengan TB, infeksi oleh MOTT dapat bermanifestasi klinis berupa infeksi pulmonal (seperti pneumonia, abses paru, pleuritis) dan infeksi ekstrapulmonal (limfadenitis, infeksi kulit dan jaringan lunak, meningitis, infeksi pada gastrointestinal, infeksi pada sendi, osteomielitis, infeksi pada genital dan infertilitas). Berdasarkan organ yang terkena, manifestasi klinis infeksi MOTT dibagi menjadi 4 grup yaitu infeksi paru kronis, limfadenopati, infeksi pada kulit dan jaringan lunak serta infeksi diseminata. Spesies MOTT dan klinis penyakit yang disebabkannya dapat dilihat pada Tabel 1. Gejala dan tanda klinis yang timbul pada infeksi oleh MOTT sering kali sulit dibedakan secara klinis dari *Mycobacterium tuberculosis*. Dibutuhkan pemeriksaan penunjang seperti pemeriksaan mikrobiologi untuk menegakkan diagnosis infeksi MOTT sekaligus penting untuk monitoring hasil terapi. 10,14,18

Tabel 1. Klinis penyakit beberapa spesies MOTT

Klinis	Nama spesies	
Penyakit paru	Mycobacterium avium complex (MAC), M.	
	kansasii, M. abscessus, M. xenopi, M. simiae,	
	M. malmoense	
Limfadenitis cervico-facial	M. scrofulaceum, M. avium, M. malmoense, M.	
	lentiflavum, M. bohemicum	
Penyakit kulit dan jaringan	M. ulcerans, M. marinum, M. abscessus, M.	
lunak	fortuitum, M. haemophilum, M. chelonae	
Penyakit tulang dan sendi	Mycobacterium avium complex (MAC), M.	
	kansasii, M. abscessus, M. xenopi, M. goodii,	
	M. terrae	
Infeksi diseminata	M. avium, M. intracellulare, M. haemophilum,	
	M. genavense	

Dikutip dari Sharma SK, et al. 10

#### PEMERIKSAAN PENUNJANG MIKROBIOLOGI

Diagnosis infeksi MOTT membutuhkan integrasi data klinis, radiologis dan hasil pemeriksaan mikrobiologi. 19,20 Pemeriksaan laboratorium secara mikrobiologi merupakan salah satu pemeriksaan penunjang yang digunakan untuk menegakkan diagnosis infeksi MOTT. Pemeriksaan yang dapat dilakukan adalah pemeriksaan mikroskopik, biakan, identifikasi dengan uji biokimia, metode high-performance liquid chromatography (HPLC), molekular dan uji imunodiagnostik. 10,14,21 Untuk melakukan pemeriksaan secara mikrobiologi dibutuhkan spesimen yang baik, sehingga perlu diperhatikan cara pengambilan spesimen yang benar dan penting untuk menghindari kemungkinan sumber kontaminasi terutama dari lingkungan. Spesimen bisa diambil dari hampir seluruh bagian tubuh sesuai dengan organ yang terkena. Infeksi MOTT pada paru dibutuhkan pengambilan spesimen dari saluran napas berupa sputum, aspirat bronkus, bronchoalveolar lavage (BAL) dan biopsi paru, sedangkan untuk diagnosis infeksi MOTT ekstrapulmonal dapat digunakan spesimen berupa jaringan (nodus limfe, kulit), aspirat luka, abses, darah, cairan tubuh (cairan serebrospinal, cairan pleura, cairan peritoneum, cairan perikardium, cairan sendi). 2,4,9,14,20

Pengambilan spesimen dari saluran napas berupa sputum dibutuhkan sebanyak satu set, yang terdiri dari minimal tiga sputum yang diambil waktu pagi di hari yang berbeda.<sup>4,10</sup> Prosedur bronkoskopi untuk pengambilan spesimen BAL atau bilas bronkial dilakukan hanya bila ada kecurigaan infeksi MOTT pulmonal pada pasien yang tidak dapat mengeluarkan sputum secara spontan atau induksi.<sup>20</sup> Spesimen jaringan diambil untuk menegakkan diagnosis limfadenitis oleh MOTT yaitu dengan cara aspirasi jarum halus atau eksisi nodus limfe, sedangkan biopsi kulit merupakan spesimen terbaik yang diperlukan untuk menegakkan diagnosis infeksi kulit oleh MOTT. Pemeriksaan histopatologi sebaiknya dilakukan juga pada biopsi kulit untuk menentukan adanya radang granulomatosa yang disebabkan oleh infeksi Mycobacteria dan diperlukan untuk kasus sulit.<sup>20</sup>

#### Pengumpulan spesimen dan transportasi ke laboratorium

Dalam pengambilan spesimen, terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan. Pasien sebaiknya tidak berkumur dengan air kran sampai sputum diambil. Pengunaan air untuk pengambilan spesimen BAL atau bilas bronkial hendaknya menggunakan saline steril. Begitu pula bronkoskop yang digunakan untuk prosedur bronkoskopi juga harus steril. Untuk pengambilan spesimen ekstrapulmonal, instrumen bedah yang digunakan juga harus diperhatikan sterilitasnya dan tidak boleh dibersihkan dengan air kran. Spesimen jaringan yang dikirim sebaiknya diberikan sedikit cairan salin steril untuk menghindari pengeringan dan tidak boleh diberikan formalin saat transfer spesimen ke laboratorium. Spesimen yang telah diambil harus dimasukkan dalam wadah steril, tidak bocor, dan diberi label, dan jangan dibuka sampai tiba di laboratorium. Bila ada keterlambatan pengantaran spesimen ke laboratorium lebih dari 1 jam, hendaknya spesimen disimpan pada suhu 2-8°C. Bila memungkinkan, pengambilan spesimen dilakukan sebelum pemberian antibiotik.

#### Proses dekontaminasi

Proses dekontaminasi harus dilakukan pada spesimen secara steril sesudah sampai di laboratorium. Pemilihan disinfektan menjadi penting oleh karena MOTT resisten terhadap sebagian besar disinfektan seperti klorin, benzalkonium klorida, setilpiridinium klorida, senyawa amonium kuartener, senyawa fenol atau desinfektan berbahan dasar glutaraldehid. Proses dekontaminasi harus

dilakukan pada spesimen yang diambil dari lokasi yang yang tidak steril. Hal ini harus dilakukan untuk meminimalkan kontaminasi dan tumbuhnya organisme lain seperti bakteri dan jamur sehingga dapat menghambat tumbuhnya *Mycobacterium*. Spesimen jaringan harus digerus dengan cairan salin steril dan dilakukan secara aseptik lalu ditanam ke media selektif *Mycobacterium*. Metode dekontaminasi yang banyak digunakan adalah dengan menggunakan 0,25% *N-acetyl-L-cysteine sodium hydroxide* dan 1% NaOH (NALC-NaOH).<sup>20</sup> Pada spesimen sputum yang diambil dari pasien CF, proses dekontaminasi dilanjutkan dengan menggunakan asam oksalat 5% untuk meminimalkan kontaminasi oleh bakteri batang gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>24</sup>

#### PEMERIKSAAN MIKROSKOPIK

Metode pewarnaan yang digunakan untuk deteksi MOTT adalah pewarnaan tahan asam seperti pewarnaan Ziehl-Neelsen (ZN), Kinyoun dan pewarnaan fluorokrom menggunakan auramin dan rhodamin yang diamati dengan mikroskop fluoresen. Jumlah BTA yang terlihat pada pemeriksaan mikroskopik mencerminkan jumlah BTA pada spesimen klinis. Pemeriksaan secara mikroskopis memiliki sensitivitas yang terbatas serta sulit untuk membedakan antara MOTT dan Mycobacterium tuberculosis dengan pemeriksaan ini. Secara umum sensitivitas pewarnaan mikroskopik berkisar antara 20% sampai 80%.3 Pewarnaan ZN and auramin memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan Kinyoun, tapi bila dibandingkan dengan kultur, sensitivitasnya masih lebih rendah.<sup>21</sup> Berdasarkan studi sebelumnya didapatkan sensitivitas pewarnaan ZN sebesar 70% dengan spesifisitas 90%, sedangkan pewarnaan fluorokrom sensitivitasnya mencapai 90% dengan spesifisitas 84%. <sup>25</sup> Pada pemeriksaan histopatologi, sensitivitas pewarnaan fluorokrom dan ZN juga rendah. Hal ini dikarenakan penggunaan formalin pada proses fiksasi. Untuk mendapatkan hasil positif, jumlah bakteri (limit detection) yang diperlukan relatif besar, yaitu 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> bakteri/ml sputum, sehingga hanya efektif pada pasien yang sudah menunjukkan gejala klinis.<sup>22</sup> Oleh karena itu, identifikasi MOTT masih harus ditentukan dengan biakan. Penilaian pewarnaan ZN dan fluorokrom dapat dilihat pada Tabel 2.3,26

Tabel 2. Pelaporan pewarnaan tahan asam

Jumlah BTA yang terlihat dengan ZN (pembesaran 1000x)	Jumlah BTA yang terlihat dengan pewarnaan fluorokrom (pembesaran 450x)	Pelaporan
0 10	0	Tidak terlihat BTA
1-2/300 LP	1-2/70 LP	Meragukan, saran : pengulangan uji dengan spesimen baru
1-9/100 LP	2-18/50 LP	1+
1-9/10 LP	4-36/10 LP	2+
1-9/LP	4-36/LP	3+
> 9/LP	> 36/LP	4+
LP: lapang pandang		

Dikutip dari Tille, PM dan Lehman, DC.3,26

#### BIAKAN

Biakan dinilai lebih efektif dibanding pewarnaan karena dapat mendeteksi Mycobacterium dalam jumlah sedikit (10-100 Mycobacterium/ml spesimen).<sup>22</sup> Biakan untuk Mycobacterium dapat ditanam pada media padat dan cair. Media padat dinilai dapat mengidentifikasi secara tepat karena dapat mengamati morfologi koloni, tingkat pertumbuhan, kategorisasi spesies berdasarkan pigmentasi dan jumlah dari organisme yang tumbuh. Sedangkan media cair dapat memberikan hasil yang lebih cepat dan meningkatkan pemulihan (recovery) Mycobacterium. Media padat yang digunakan adalah media dengan bahan telur seperti agar Lowenstein-Jensen (LJ) atau media dengan bahan agar seperti Middlebrook 7H10 dan 7H11.3 Media dengan bahan agar ini bisa digunakan juga untuk uji kepekaan. Sedangkan media cair yang banyak digunakan adalah Middlebrook 7H9 dengan sistem Mycobacterium growth indicator tube (MGIT). Sistem ini mendeteksi pertumbuhan bakteri dengan sensor oksigen berbasis quenching fluoresensi. Pada media cair, antibiotik ditambahkan untuk menekan pertumbuhan bakteri kontaminan dan jamur. Antibiotik yang ditambahkan adalah polimiksin B 50 U/ml, amfoterisin B 5  $\mu$ g/ml, asam nalidiksat 20  $\mu$ g/ml, trimethoprim 5  $\mu$ g/ml dan azlocillin 10 µg/ml. Pada media juga ditambahkan nutrisi seperti albumin, dekstrosa dan asam oleat untuk meningkatkan laju pertumbuhan bakteri.<sup>21</sup>

Metode konvensional dengan media padat membutuhkan waktu 6-8 minggu untuk mendeteksi pertumbuhan bakteri dan merupakan pemeriksaan baku emas.<sup>21</sup> Sedangkan biakan dengan media cair memiliki sensitivitas yang tinggi karena dapat mendeteksi pertumbuhan dalam 1-2 minggu. Sensitivitas biakan MOTT meningkat sebesar 15% bila biakan dilakukan pada media padat bersama media cair. Hasil pemeriksaan biakan dapat dikeluarkan setelah 6 minggu bila tidak ada pertumbuhan yang terdeteksi pada media cair dan 8 minggu inkubasi pada media padat.<sup>21</sup>

Suhu optimal inkubasi untuk biakan *Mycobacterium* adalah 28-37°C dengan variasi suhu 27-45°C.<sup>10,20</sup> Pengecualian untuk biakan yang dilakukan dari spesimen kulit, jaringan lunak dan cairan sendi yang membutuhkan suhu optimal inkubasi yang lebih rendah, sehingga perlu dilakukan inokulasi tambahan pada 1 set media yang diinkubasi pada 28-30°C disamping inkubasi pada 35-37°C. Sebagian besar MOTT tumbuh dalam waktu 2-3 minggu.<sup>27</sup> Terdapat kelompok MOTT yang tumbuh lambat (*slow growers*) yaitu dalam waktu 8-12 minggu dan kelompok *rapid growers* yaitu dalam 7 hari.<sup>3</sup>

Pada kasus MOTT yang diisolasi dari pasien yang tidak menunjukan progresifitas penyakit atau didapatkan isolasi MOTT yang dicurigai akibat kontaminasi dari lingkungan, diagnosis MOTT secara mikrobiologi ditegakan bila terdapat lebih dari satu kultur sputum yang positif dan harus ditemukan spesies MOTT yang sama (atau subspesies pada kasus *M. abscessus*) pada dua atau lebih kultur sputum.<sup>20</sup> Diagnosis dapat dikonfirmasi juga bila ditemukan satu kultur yang positif pada spesimen bilas bronkial atau BAL, kultur positif pada biopsi paru atau transbronkial disertai gambaran radang granulomatosa.<sup>19</sup>

#### **IDENTIFIKASI MOTT**

Identifikasi MOTT sampai tingkat spesies penting untuk menentukan apakah isolat yang didapatkan bermakna secara klinis selain untuk menentukan terapi yang tepat karena perbedaan kepekaan antimikroba untuk tiap spesies.<sup>20</sup> Selama ini identifikasi *Mycobacterium* menggunakan uji fenotip. Uji fenotip adalah uji yang

digunakan dengan melihat kecepatan pertumbuhan, pembentukan pigmen dan uji biokimia.<sup>21</sup> Berdasarkan kecepatan pertumbuhan dan pembentukan pigmen, Runyon mengklasifikasikan MOTT menjadi 4 kelompok fenotip yang dikenal dengan klasifikasi Runyon yang dapat dilihat pada Tabel 3.<sup>3</sup> Kategori I-III diklasifikasikan sebagai MOTT tumbuh lambat (*slow growers*).

Tabel 3. Klasifikasi Runyon

Klasifikasi Runyon	Nama Kelompok	Gambaran
I	Fotokromogen	Koloni MOTT membentuk pigmen jika terpajan cahaya dan
II	Skotokromogen	membutuhkan waktu tumbuh lebih dari 7 hari pada media padat Koloni MOTT membentuk pigmen pada kondisi gelap atau terang dan membutuhkan waktu tumbuh lebih dari 7 hari pada media padat
III	Nonfotokromogen	Koloni MOTT yang tidak membentuk pigmen dan membutuhkan waktu tumbuh lebih dari 7 hari pada media padat
IV	Rapid growers	Koloni MOTT tumbuh dalam waktu kurang dari 7 hari pada media padat

Dikutip dari Lehman, DC, et al. 3

#### UJI BIOKIMIA

Uji biokimia yang digunakan untuk identifikasi MOTT antara lain uji produksi niasin, reduksi nitrat dan uji p-nitrobenzoic acid (PNB). Uji PNB merupakan uji yang penting untuk membedakan MOTT dari *Mycobacterium tuberculosis*. Pada uji ini, bakteri MOTT akan tumbuh pada media pertumbuhan yang mengandung PNB karena resisten terhadap PNB sebaliknya *Mycobacterium tuberculosis* akan terhambat pertumbuhannya. Beberapa studi menunjukkan identifikasi dengan menggunakan uji biokimia membutuhkan waktu yang lama yaitu 7-28 hari, sehingga memperlambat penegakan diagnosis. <sup>14</sup> Uji biokimia membutuhkan proses yang rumit dan saat ini juga sudah ditinggalkan karena tidak berguna untuk identifikasi spesies secara pasti, apalagi dengan munculnya spesies MOTT yang baru. <sup>10</sup>

#### METODE HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

Identifikasi MOTT dapat juga ditentukan dengan metode HPLC.<sup>28</sup> Metode HPLC merupakan uji yang menganalisis jumlah atom karbon pada senyawa asam mikolat yang terdapat pada dinding spesies MOTT, namun identifikasi dengan metode ini saat ini juga sudah ditinggalkan karena kurang spesifik mengidentifikasi spesies MOTT yang rapid growers.<sup>10</sup>

#### METODE MOLEKULAR

Sejak 20 tahun terakhir setelah era molekular muncul, banyak spesies baru yang teridentifikasi. Uji molekular menjadi lebih unggul dari uji konvensional seperti uji biokimia dan HPLC yang saat ini sudah ditinggalkan untuk identifikasi MOTT. Uji molekular juga digunakan untuk deteksi MOTT yang tidak dapat dibiakkan atau dilakukan pada pasien dengan kecurigaan tinggi ke arah infeksi MOTT tapi hasil biakan negatif. Saat ini identifikasi MOTT yang banyak digunakan adalah dengan metode molekular karena dapat mengidentifikasi sampai tingkat subspesies MOTT. Terdapat beberapa uji molekular untuk deteksi dan identifikasi MOTT antara lain line probe assay (LPA), DNA probes, polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) dan DNA sekuensing serta matrix assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. Hasil pemeriksaan dengan metode molekular dapat memberikan hasil yang cepat dan tepat dalam waktu kurang 24 jam. 1000.

#### DNA Probe

Dasar dari teknik ini adalah hibridisasi *probe* DNA yang spesifik dengan 16s rRNA *Mycobacterium* sehingga membentuk hibrid DNA-RNA yang stabil. <sup>10</sup> *Probe* tersedia secara komersial untuk identifikasi cepat beberapa spesies MOTT. Salah satu contoh dari *DNA probe* yang sudah tersedia adalah *Gen-Probe* yang dapat digunakan untuk mendeteksi spesies Mycobacterium seperti *M. tuberculosis complex, M. intracellulare, M. avium, M. kansasii, M. avium complex, M chelonae, M fortutium*, dan *M. gordonae*. <sup>21</sup> Uji ini memiliki kelebihan yaitu dapat dilakukan langsung pada sampel klinis sehingga hasilnya bisa didapatkan dengan cepat, namun demikian terdapat kemungkinan reaksi silang antar spesies Mycobacterium dan terbatas hanya untuk mengidentifikasi spesies MOTT yang sering diisolasi saia. <sup>10,28</sup>

#### Line Probe Assays (LPA)

Dasar dari teknik ini adalah *reverse hybridization* dari produk DNA yang telah diamplifikasi dengan *probes* komplementer. Target DNA yang digunakan adalah 16S-23S rDNA *spacer region* dan 23S rDNA.<sup>14</sup> Teknik ini menggunakan teknologi

strip membran nitroselulosa DNA untuk mendeteksi sekaligus mengidentifikasi Genus dan spesies *Mycobacterium*. Tahapan dari teknik ini adalah amplifikasi produk DNA dengan *polymerase chain reactions* (PCR), hibridisasi produk DNA pada strip, deteksi dan interpretasi hasil. Waktu yang diperlukan sampai deteksi adalah sekitar 6 jam. Saat ini tersedia 3 uji strip DNA yang tersedia secara komersial yaitu Inno-LiPA Mycobacteria, GenoType Mycobacterium *common Mycobacteria* (GenoType CM) dan GenoType *additional species* (GenoType AS).<sup>14</sup>

Kit Inno-LiPA Mycobacteria dirancang untuk mengidentifikasi 17 spesies berbeda yaitu *M. tuberculosis complex*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium scrofulaceum*, *M. avium complex* dan dapat membedakan ketiga subgrup dari M. *chelonae* dan *M. kansasii*. Pada kit GenoType CM memiliki probe untuk mendeteksi 15 spesies Mycobacterium, sementara kit GenoType AS memiliki tambahan 16 spesies MOTT.<sup>21</sup> Kelebihan dari uji ini adalah dapat dilakukan langsung pada biakan cair dari isolat primer tanpa menunggu hasil biakan pada media padat.<sup>14</sup> Metode LPA dinilai sangat tepat, cepat dan konsisten dengan sensitivitas sebesar 96%, namun demikian terdapat kekurangan karena terbatas hanya untuk mengidentifikasi spesies MOTT yang sering diisolasi saja.<sup>28</sup>

#### Amplifikasi DNA, Analisis Sekuensing dan Whole Genome Sequencing (WGS)

Teknik PCR merupakan teknik amplifikasi DNA yang dilanjutkan dengan analisis sekuen amplikon. Terdapat beberapa target DNA yang dapat digunakan antara lain 65-kD *heat shock protein* (hsp65), gen 16s rRNA, gen 23s rRNA, gen rpoB, *sequence* DNA *internal transcribed spacer* (ITS). 10,16,20,21 Teknik sekuensing multilocus menjadi pilihan karena spesies MOTT teridentifikasi dengan lebih tepat. Di antara beberapa target DNA tersebut, gen 16s rRNA merupakan yang paling banyak digunakan karena gen ini dimiliki oleh semua spesies bakteri dan terdapat *conserved* dan *variable region* di dalamnya yang membuat gen ini menjadi target yang ideal untuk tujuan taksonomi sampai level subspesies. 20

Fragmen DNA yang telah diamplifikasi dapat dideteksi dengan berbagai teknik dengan dasar hibridisasi *probe* misalnya PCR *restriction fragment length* 

polymorphism analysis (PRA). Sesudah proses amplifikasi, dilanjutkan dengan analisis sekuensing amplikon fragmen DNA untuk tujuan identifikasi Mycobacterium. Teknik PRA yang saat ini secara luas digunakan untuk identifikasi MOTT adalah berdasarkan PCR dari sequence 441 pasang basa dari gen yang mengkode 65-kD hsp65 yang diikuti dengan proses digesti enzim restriksi. Fragmen DNA diamati pada gel elektroforesis dan pola yang terbentuk digunakan untuk identifikasi spesies. Ukuran dari fragmen restriksi biasanya spesifik terhadap spesies. Identifikasi organisme dilakukan dengan membandingkan sekuens nukleotida yang terbentuk dengan referensi sekuens yang ada. Kendalanya bila isolat yang diujikan tidak sesuai dengan database referensi sekuens yang tersedia. Hasil akan dilaporkan sebagai "hampir dekat hubungannya dengan spesies tertentu," tergantung pada perbedaan sekuens antara isolat yang tidak diketahui dan database yang ada.

Sensitivitas metode ini dalam membedakan antara MOTT dan *Mycobacterium tuberculosis* adalah sebesar 99,2%.<sup>13</sup> Teknik PRA ini relatif memberikan hasil dengan cepat (1-2 hari) serta dapat mengidentifikasi spesies MOTT tanpa proses hibridisasi dan tidak terbatas pada ketersediaan probe yang spesifik.<sup>29</sup> Pemeriksaan amplifikasi DNA dilanjutkan dengan analisis sekuensing menjadi pemeriksaan yang paling banyak digunakan saat ini untuk mendeteksi spesies MOTT yang tidak dapat ditumbuhkan pada media biakan.<sup>30,31</sup> Kelemahannya adalah spesies baru yang muncul mungkin juga memiliki sekuens gen 16s rRNA yang hampir serupa dengan yang sudah ada. Sebagai contoh perbedaan antara *M. szulgai* dan *M. malmoense* terletak hanya pada 2 nukleotida, akan tetapi sebenarnya kedua spesies tersebut sangat berbeda. Selain itu tidak ada batasan yang jelas mengenai perbedaan sekuens nukleotida dalam 1 galur untuk mengidentifikasi Mycobacterium.

Whole genome sequencing (WGS) adalah pemeriksaan baku emas untuk identifikasi berbagai spesies MOTT dan berguna dalam mengetahui distribusi spesies MOTT berdasarkan letak geografis dalam kaitannya transmisi bila terjadi outbreaks yang berkaitan dengan healthcare-associated infections (HAIs). WGS juga dapat memberikan informasi faktor virulensi dan resistensi MOTT terhadap berbagai antimikroba. Kekurangannya adalah harga pemeriksaan ini mahal

sehingga tidak tersedia untuk diagnostik rutin di negara berkembang serta membutuhkan tenaga ahli dalam pengerjaannya. 10,14

## Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry (MALDI-TOF-MS)

Terdapat satu metode yang digunakan untuk identifikasi dan membedakan spesies Mycobacterium, terutama spesies yang baru, yaitu MALDI-TOF yang digabung dengan *mass spectrometry*. <sup>14</sup> Teknologi ini dirancang untuk menghasilkan 'fingerprint' protein berdasarkan ion-ion yang diserap dari permukaan sel dengan mengukur rasio massa terhadap muatannya. Perangkat lunak alat secara otomatis akan menganalisis data dan menghasilkan profil untuk dibandingkan dengan pangkalan data referensi spektrum dalam mengidentifikasi semua spesies MOTT yang umum dan beberapa spesies MOTT yang tidak umum. <sup>28</sup>

Metode ini mampu mengidentifikasi MOTT langsung dari media cair dan padat, mudah dilakukan, cepat memiliki reliabilitas baik dengan kemampuan mengidentifikasi sebanyak 160 spesies MOTT serta mampu membedakan sampai level subspesies. 10,20,28 Kelebihan lain dari teknik ini dapat mengurangi risiko infeksi oleh Mycobacterium. Spesifisitas metode ini sebesar 98,6% dan hasil pemeriksaan bisa didapatkan hanya dalam waktu 1-2 jam. 14 Keterbatasan dari teknik ini adalah belum tersedianya di laboratorium di Indonesia karena harganya yang mahal, masih terbatasnya pangkalan data referensi. Seperti teknik lainnya, uji ini belum dapat mengidentifikasi spesies MOTT dengan kekerabatan dekat dengan tepat. 10

#### UJI IMUNOKROMATOGRAFI

Identifikasi cepat dan akurat Mycobacterium dapat membantu dalam tatalaksana kasus infeksi MOTT. Uji imunokromatografi dengan kit antigen MPT64 TB dapat membantu dalam mendeteksi dengan cepat dan membedakan antigen MPT64 pada isolat Mycobacterium tuberculosis dan MOTT. Sensitivitasnya sebesar 99% dengan spesifisitas 100%. Kelebihan lain dari kit ini adalah mudah dilakukan dan dapat dikerjakan langsung pada biakan yang positif. 19,21

#### KESIMPULAN

Mycobacterium other than tuberculosis (MOTT) merupakan bakteri lingkungan yang dapat ditemukan di tanah dan air yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia dengan berbagai manifestasi klinis. Secara klinis, gejala penyakit yang disebabkannya menyerupai infeksi oleh Mycobacterium tuberculosis. Perlu dilakukan identifikasi sampai level spesies untuk menentukan terapi yang sesuai. Pemeriksaan penunjang yang dapat digunakan antara lain pemeriksaan secara mikrobiologi. Beberapa pemeriksaan mikrobiologi yang dapat digunakan untuk mendeteksi dan/atau mengidentifikasi spesies MOTT yaitu pemeriksaan mikroskopik, biakan, identifikasi dengan uji biokimia, metode high-performance liquid chromatography (HPLC), molekular dan uji imunodiagnostik. Teknik molekular yang banyak digunakan antara lain DNA probe, LPA, amplifikasi DNA yang dilanjutkan dengan analisis sekuensing, WGS dan MALDI-TOF-MS.

#### ACKNOWLEDGEMENT

\_

#### **AUTHORS CONTRIBUTION**

Author contributed to the manuscript writing and to the improvement of the script.

#### **FUNDING**

Funding is covered by author.

#### CONFLICT OF INTEREST

Competing interests: No relevant disclosures.

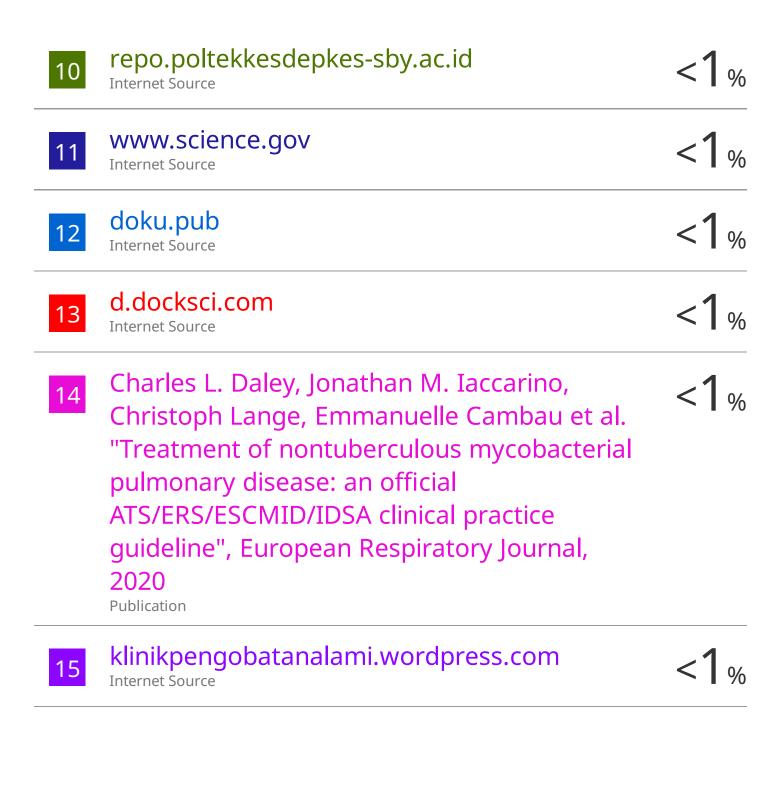
#### REFERENCES

- Murray PR. Murray's basic medical microbiology foundations and clinical cases.
   2nd ed: Elsevier; 2024.
- Ryan KJ. Mycobacteria. In: Ryan KJ, Ahmad N, Alspaugh JA, et al., eds. Sherris & Ryan's Medical microbiology. 8th ed: McGraw Hill; 2022:1010-43.
- Lehman DC. Mycobacterium tuberculosis and non tuberculous mycobacteria. In: Mahon CR, Lehman DC, eds. Textbook of diagnostic microbiology. 7th ed: Elsevier; 2023:570-96.
- 4. Cowman S, Ingen Jv, Griffith DE, et al. Non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2019;54:1900250. doi: 10.1183/13993003.00250-2019.
- To K, Cao R, Yegiazaryan A, et al. General overview of nontuberculous Mycobacteria opportunistic pathogens: Mycobacterium avium and Mycobacterium abscessus. J. Clin. Med. 2020;9:1-24. doi: 10.3390/jcm9082541.
- Kołodziej M, Puls D, Puls J, et al. Mycobacteria other than tuberculosis prevalence, symptoms, diagnostics and treatment. *Pomeranian J Life Sci.* 2023;69(3):48-51. doi: 10.21164/pomjlifesci.933.
- Katoch VM. Diagnosis & management of infections due to non-tuberculous mycobacteria in developing countries: Looking ahead. *Indian J Med Res.* 2019;150:429-31. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_2096\_19.
- 8. Falkinham JO 3rd. Environmental sources of nontuberculous mycobacteria *Clin Chest Med.* 2015;36(1):35-41. doi: 10.1016/j.ccm.2014.10.003.
- Naskar B, Bakshi S, Mandal T. Management of infections with Mycobacterium other than tuberculosis as a complication of surgical procedures. *Int Surg J.* 2020;7(7):2275-82. DOI: http://dx.doi.org/10.18203/2349-2902.isj20202835.
- Sharma SK, Upadhyay V. Epidemiology, diagnosis & treatment of non-tuberculous mycobacterial diseases. *Indian J Med Res.* 2020;152:185-226. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_902\_20.
- Johnson MM, Odell JA. Nontuberculous mycobacterial pulmonary infections. J Thorac Dis 2014;6(3):210-20. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.12.24.
- 12. Ahmeda I, Tiberib S, Farooqi J, et al. Non-tuberculous mycobacterial infections— A neglected and emerging problem. Int J Infect Dis. 2020;92:S46-50. doi: 10.1016/j.ijid.2020.02.022.
- 13. Baris A, Bayraktar B. Identification of the Mycobacterial strains isolated from clinical specimens using hsp65 PCR-RFLP method. Med Bull Sisli Etfal Hosp. 2020;54(3):364-70. doi: 10.14744/SEMB.2019.66587.
- **14.** Gopalaswamy R, Shanmugam S, Mondal R, et al. Of tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial infections a comparative analysis of epidemiology, diagnosis and treatment. *J. Biomed. Sci.*;27:1-17. doi: 10.1186/s12929-020-00667-6.
- **15.** Jeon D. Infection Source and Epidemiology of Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease. *Tuberc Respir Dis* 2019;82:94-101. doi: 10.4046/trd.2018.0026.
- Mertaniasih NM, Kusumaningrum D, Koendhori EB, et al. Nontuberculous Mycobacterial species and Mycobacterium tuberculosis complex coinfection in patients with pulmonary tuberculosis in Dr. Soetomo Hospital, Surabaya, Indonesia. Int J Mycobacteriol. 2017;6:9-13.

- Gangania PS, Bisht D, Singh VA. Current concepts of diagnosis for mycobacterial infections in female genital tract. *Indian J Microbiol Res.* 2017;4(1):7-13. DOI: 10.18231/2394-5478.2017.0002
- Ali N. Nontuberculous mycobacteria (NTM) and its diagnosis. Mycobact Dis No:10000285. 2022;12(3):285. DOI: 10.352481/2161-1068.22.12.285.
- 19. Juita LR, Fauzar. Diagnosis dan tatalaksana penyakit paru nontuberculous mycobacteria. Jurnal Kesehatan Andalas. 2018;7:141-5. DOI: http://dx.doi.org/10.25077/jka.v7i0.858
- 20. Daley CL, Laccarino JM, Lange C, et al. Treatment of nontuberculous Mycobacterial pulmonary disease: An official ATS/ERS/ESCMID/IDSA clinical practice guideline. Clin. Infect. Dis. 2020;71(4):e1-e36. doi: 10.1093/cid/ciaa1125.
- Maurya AK, Nag VL, Kant S, et al. Recent methods for diagnosis of nontuberculous Mycobacteria infections: relevance in clinical practice. *Biomed Biotechnol Res J.* 2017;1:14-8. DOI: 10.4103/bbrj\_bbrj\_18\_17.
- **22.** Martin I, Pfyffer GE, Parrish N. Mycobacterium: General characteristics, laboratory processing, staining, isolation, and detection procedures In: Carroll KC, Pfaller MA, Karlowsky JA, et al., eds. *Manual of clinical microbiology*. 13th ed: ASM Press; 2023:533-40.
- 23. Weeks JW, Segars K, Guha S. The research gap in Non-tuberculous Mycobacterium (NTM) and reusable medical devices. Front. Public Health 2020;8(399). doi:10.3389/fpubh.2020.00399.
- 24. Stephenson D, Perry A, Nelson A, et al. Decontamination strategies used for AFB culture significantly reduce the viability of Mycobacterium abscessus Complex in sputum samples from patients with cystic fibrosis. *Microorganisms*. 2021;9(8):1597. doi: 10.3390/microorganisms9081597.
- 25. Suryawati B, Saptawati L, Putri AF, et al. Sensitivitas metode pemeriksaan mikroskopis fluorokrom dan Ziehl-Neelsen untuk deteksi Mycobacterium tuberculosis pada sputum. *Smart Medical Journal* 2018;1(2):56-61. DOI: https://doi.org/10.13057/smj.v1i2.28704.
- 26. Tille PM. Mycobacteria and other bacteria with unusual growth requirements. In: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology tE, ed. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 15th ed: Elsevier; 2022.
- 27. Zhou D, Zhu N, Li S, et al. Characteristics and comparison of rapidly growing and slowly growing nontuberculous Mycobacterial pulmonary disease. *Int J Mycobacteriol*. 2023;12:324-31. doi: 10.4103/ijmy.ijmy\_145\_23.
- 28. Sam AS, Ninan MM, Ranjani R, et al. Nontuberculous mycobacteria clinical and laboratory diagnosis: experiences from a TB endemic country. *Future Sci. OA.* 2020;6(9):FSO612. doi: 10.2144/fsoa-2020-0023.
- **29.** Kunduracılar H. Identification of mycobacteria species by molecular methods. *Int Wound J.* 2020;17:245-50. doi: 10.1111/iwj.13238.
- **30.** Hashemzadeh M, Dezfuli AA, Khosravi AD, et al. Molecular identification of non-tuberculous mycobacterial species isolated from extrapulmonary samples using real-time PCR and rpoB sequence analysis. *AMB Express* 2023;13:43. doi: 10.1186/s13568-023-01553-8.
- Peixoto AdS, Montenegro LML, Lima AS, et al. Identification of nontuberculous mycobacteria species by multiplex real-time PCR with high-resolution melting. Rev Soc Bras Med Trop. 2020;53:e20200211. doi: 10.1590/0037-8682-0211-2020.

## drive.google.com/drive/folders/1g0LAOATDPgfhSHdZpFZ6I... usp=drive\_link

usp=arive_iin	K		
ORIGINALITY REPORT			
6% SIMILARITY INDEX	6% INTERNET SOURCES	4% PUBLICATIONS	3% STUDENT PAPERS
PRIMARY SOURCES			
1 WWW.NC	cbi.nlm.nih.gov		1 %
jurnal.u Internet Sour			1 %
3 Submitt Student Pape	ed to Sharda Ur	niversity	<1%
4 ejourna Internet Sour	l.ukrida.ac.id		<1%
5 thieme-	connect.com		<1%
6 WWW.re Internet Sour	searchgate.net		<1 %
jcm.asm Internet Sour			<1%
8 ojs.pum Internet Sour			<1%
9 rozi-fpk Internet Sour	.web.unair.ac.id		<1%



Exclude quotes On Exclude bibliography On

Exclude matches

< 10 words