

Gambaran Definitif Meningitis Tuberkulosa di RSUP dr. Kariadi Semarang

Studi Deskriptif pada pasien dewasa dengan menggunakan *real time* PCR dengan target amplifikasi pada IS6110 *Mycobacterium tuberculosis complex*

The Definitive Diagnosis of Tuberculous Meningitis (TBM) di RSUP dr. Kariadi Semarang Descriptive study in adult patients using IS6110-based PCR amplification for detecting Mycobacterium tuberculosis

Masfiah¹, Aris Catur Bintoro², Purnomo Hadi³

¹ Staf Bagian Mikrobiologi Klinik FK UNISSULA Semarang

² Staf Bagian Neurologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP dr. Kariadi Semarang

³ Staf Bagian Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP dr. Kariadi Semarang

ABSTRAK

Meningitis Tuberkulosa (TB) adalah penyebab terbesar infeksi TB pada susunan saraf pusat dengan morbiditas dan mortalitas yang sangat tinggi. Gambaran mengenai definitif meningitis TB di RSUP dr Kariadi Semarang masih sangat terbatas. Tujuan penelitian untuk mendapatkan gambaran definitif meningitis TB di RSUP dr Kariadi Semarang dengan menggunakan *primer* yang sensitif dan spesifik IS6110. Jenis penelitian deskriptif, dengan sampel semua pasien dengan meningitis dan atau meningitis TB yang dirawat di RSUP Dr Kariadi Semarang, berumur > 14 tahun dengan *Thwaites' Diagnostic Score* ≤ 4 selama 1 Maret 2013-30 November 2013. Penegakan definitif meningitis TB dilakukan dengan menggunakan PCR dengan target amplifikasi pada IS6110 untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis complex* yang dilakukan di laboratorium mikrobiologi klinik FK UNDIP/RSUP dr. Kariadi Semarang. Data sekunder meliputi data dasar dan data laboratorium diambil dari catatan medik pasien. Rata-rata usia adalah 39,59 ± 15,7. Enam (35,3%) pasien merupakan definitif meningitis TB. Ditemukan 3 (17,64%) pasien positif meningitis oleh *NTM (Non Tuberculous Mycobacteria)*. *Dual infection* terjadi pada 1 (5,8%) kasus antara meningitis TB dan meningitis bakterialis. Rata-rata sampel adalah usia produktif, beberapa adalah definitif meningitis TB. Ditemukan pasien meningitis oleh *NTM (Non Tuberculous Mycobacteria)* dan ditemukan juga suatu kasus *dual infection*.

Kata kunci : dewasa, meningitis TB, PCR, RSUP dr Kariadi Semarang

ABSTRACT

Tuberculous meningitis (TBM) is the most common cause of central nervous system infection and has very high morbidity and mortality. The definitive diagnosis of TBM in RSUP dr Kariadi Semarang has been insufficient. This study aimed at finding out the definitive diagnosis of TBM di RSUP dr Kariadi Semarang using IS6110 sensitive and specific primer. This was a descriptive study included all in-patients with meningitis and/or TBM of RSUP Dr Kariadi Semarang aged > 14 years with Thwaites' Diagnostic Score ≤ 4 between March 1, 2013 and November, 30 2013. The definitive diagnosis of TBM was made using IS6110-based PCR amplification for detecting Mycobacterium tuberculosis complex conducted in microbiology clinic of FK UNDIP/RSUP dr. Kariadi Semarang. The secondary data was the basic and laboratory data from the medical records of the patients. Mean age was 39.59 ± 15.7. Six (35.3%) patients were diagnosed with definitive TBM, 3 (17.64%) were meningitis positive by NTM (Non Tuberculous Mycobacteria). Dual infection was found in 1 (5.8%) case between TBM and bacterial meningitis. Most patients were productive age. Some had definitive TBM. The patient with meningitis and dual infection were also diagnosed with NTM (Non Tuberculous Mycobacteria).

Kata kunci : adult, meningitis TB, PCR, RSUP dr Kariadi Semarang

LATAR BELAKANG

Meningitis Tuberkulosa (TB) adalah infeksi oleh *Mycobacterium tuberculosis* yang mengenai *mening* atau parenkim otak (Baron et al., 2007). Morbiditas dan mortalitas yang ditimbulkan sangat besar, lebih besar daripada infeksi oleh bakteri yang lain maupun

virus (50% VS 10%). Penegakkan diagnosis yang cepat perlu dilakukan untuk menekan morbiditas maupun mortalitas yang ditimbulkan (Trung et al., 2012).

Penegakan diagnosis meningitis TB didasarkan pada karakteristik klinis, seluler laboratorium, mikrobiologi *liquor cerebrospinalis* (LCS), dan *radiological*

imaging (Deshpande *et al.*, 2007). Pemeriksaan mikrobiologi LCS secara konvensional adalah dengan pengecatan Ziehl Neelsen (ZN) dan kultur TB (Rock *et al.*, 2008). Hasil pengecatan ZN dari material LCS seringkali memberikan hasil negatif palsu, disebabkan karena sedikitnya konsentrasi bakteri di dalam LCS Caws *et al.* (2000), sedangkan kultur TB membutuhkan waktu yang lama sekitar 5-8 minggu (Noussair *et al.*, 2009). Konsentrasi bakteri dalam LCS pada kasus infeksi susunan saraf pusat biasanya dibawah 10^3 /ml. Penelitian membuktikan bahwa pada konsentrasi tersebut, nilai kepositipan pengecatan hanya sekitar 25%, sedangkan bila konsentrasi bakteri didalam LCS lebih dari 10^5 /ml, kepositipan bisa mencapai 97% (Mandell *et al.*, 2000). Penelitian lain menyatakan nilai kepositipan pengecatan untuk konsentrasi bakteri $< 10^3$ /ml berkisar 0-20% (Noussair *et al.*, 2009).

Nucleic acid amplification (NAA) assay terutama *Polimerase Chain Reaction* (PCR) merupakan teknik yang cepat, spesifik, dan sensitif untuk mendeteksi meningitis tuberkulosa (Takahashi *et al.*, 2012). Keberhasilan PCR tergantung dari amplifikasi DNA dengan *primer* yang sensitif dan spesifik (Takahashi *et al.*, 2012). Beberapa target amplifikasi dapat digunakan untuk mendeteksi *M. Tuberculosis complex* antara lain MBP-64, TRC₄, 65 kDa antigen, serta IS6110 (Johansen *et al.*, 2004). IS6110 merupakan *insertion sequence* target untuk amplifikasi PCR dari *M. Tuberculosis complex* yang mempunyai spesifisitas tinggi sekitar 94% Caws *et al.* (2000) dan sensitivitas tinggi (85-97%) (Chowdhury *et al.*, 2012, Maurya *et al.*, 2012). Keberhasilan deteksi dengan menggunakan PCR juga bergantung dari kondisi sebelum isolasi (penyimpanan sampel klinis, transportasi) dan cara ekstraksi. *Mycobacterium* mempunyai dinding sel yang khusus sehingga tahapan ekstraksi DNA membutuhkan proses *shock treatment* melalui proses pemanasan maupun pendinginan untuk menghancurkan dinding sel bakteri, pemberian *lysozyme* diikuti *Chemical treatment* (Thakur *et al.*, 2011). Keberhasilan PCR juga ditentukan oleh jenis PCR. *Real time PCR* lebih sensitif daripada konvensional PCR (Halse *et al.*, 2011). Sentrifugasi material LCS juga dapat menambah sensitivitas pemeriksaan karena sedikitnya jumlah bakteri di dalamnya. Kecepatan yang dibutuhkan untuk melakukan sentrifugasi pada material LCS sangat tinggi, lebih tinggi dari pada material yang lain (Murray *et al.*, 2000).

Kejadian definitif meningitis TB di berbagai belahan dunia bervariasi antara 3% (USA) (Marx and Chan, 2011) dan 28,9% (Filipina) (Pasco, 2012). Tidak ada data mengenai gambaran definitif meningitis TB di RSUP dr Kariadi Semarang. Data laboratorium mikrobiologi dari pengecatan *Ziehl Neelsen* dan kultur

TB pada material LCS yang dikirim selama kurun waktu Januari 2012-Desember 2012 nilai kepositipan hanya sekitar 0,83% (Mikrobiologi, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan gambaran definitif meningitis TB di RSUP dr.Kariadi Semarang menggunakan PCR dengan primer IS6110 yang sensitif dan spesifik untuk *Mycobacterium tuberculosis complex*, menggunakan teknik sentrifugasi tinggi sebelum pemrosesan sampel, serta menggunakan *shock treatment* pemanasan pada tahap ekstraksi.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah deskriptif. Semua pasien dengan meningitis dan atau meningitis TB, umur > 14 tahun dengan *Thwaites' Diagnostic Scoring* Sunbul *et al.* (2005) (prediksi untuk meningitis TB) ≤ 4 yang dirawat di RSUP Dr.Kariadi Semarang dalam kurun waktu 1 Maret 2013-30 November 2013 diambil sebagai sampel. Penegakan definitif meningitis TB dilakukan dengan menggunakan PCR dengan target amplifikasi pada IS6110 untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis complex* yang dilakukan di laboratorium mikrobiologi klinik FK UNDIP/RSUP dr. Kariadi Semarang. Oligonukleotida *primers* yang digunakan adalah IS6110R : 5'-CGTAGGCGTCGGTGACAAA-3' dan IS6110F : 5'-CTAACCGGCTGTGGGTA 3'. Prosedur ekstraksi menggunakan pemanasan suhu 56°C, sedang amplifikasi DNA menggunakan *Bio-Rad[®]iQ[™]5 real-time PCR*. Pemrosesan sampel menggunakan sentrifugasi kecepatan 6000 rpm selama 15 menit dengan menggunakan *Thermo Scientific 'Sorvall' Biofuge Primo Centrifuge[®]*.

Data sekunder diambil dari catatan medik pasien meliputi data dasar dan data laboratorium. Data dasar yang diambil adalah umur dan jenis kelamin, sedangkan data laboratorium meliputi data karakteristik LCS yaitu peningkatan kadar protein, penurunan kadar glukosa, dan adanya pleositosis dengan sel *mononuclear predominant*. Peningkatan protein didefinisikan dengan ada atau tidaknya peningkatan protein >45 mg/dL (Pasco, 2012). Penurunan glukosa didefinisikan ada atau tidaknya penurunan $> 50\%$ glukosa LCS dibandingkan glukosa serum (Pasco, 2012). Pleositosis dengan sel *mononuclear predominant* didefinisikan ada atau tidak peningkatan kadar lekosit total LCS lebih dari 50 lekosit/mm³, dengan rasio sel *mononuclear* lebih tinggi dari sel polimorfonuclear (Pasco, 2012). Gambaran CT (*Computer tomography*) scan kepala ditentukan dari ada atau tidaknya gambaran *basal meningeal enhancement* dan atau *hydrocephalus* dan atau infark (Marais *et al.*, 2010). Data dianalisis secara deskriptif dalam bentuk distribusi frekuensi dan prosentase. Prosedur penelitian

sudah mendapat persetujuan Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

HASIL

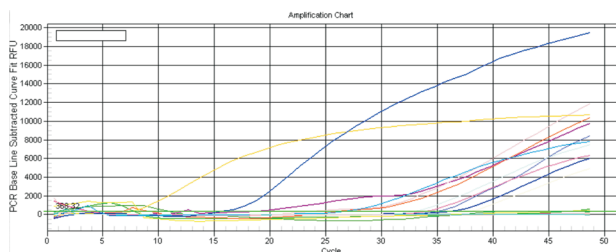
Selama Maret 2013-November 2013 terdapat 17 sampel pasien dengan meningitis dan atau meningoencephalitis TB dengan *Thwaites' Diagnostic Scoring* ≤ 4 dengan 6 sampel positif pada pemeriksaan PCR. Adapun karakteristik sampel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Sampel

Keterangan	Jumlah n=17
Definitif Meningitis TB	
Ya	6 (35,3%)
Tidak	11 (64,7%)*
Umur	39,59 ± 15,7
Jenis Kelamin	
Laki-laki	11 (64,7)
Perempuan	6 (35,3%)
Peningkatan Protein LCS	
Ada	14 (82,4%)
Tidak	3 (17,6%)
Penurunan Glukosa LCS	
Ada	13 (76,5%)
Tidak	4 (23,5%)
Peositosis dengan sel mononuclear predominant	
Ada	4 (23,5%)
Tidak	13 (76,5%)
TB Paru	
Ada	9 (52,9%)
Tidak	8 (47,1%)
CT Scan kepala didapat gambaran meningitis TB	
Ada	11 (64,7%)
Tidak	6 (35,3%)

*sebanyak 3 (17,64%) kultur *Mycobacterium sp* positif tetapi PCR negatif, kemungkinan suatu NTM (*Non Tuberculous Mycobacteria*)

Data laboratorium mikrobiologi ditampilkan dalam Tabel.2 serta Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Hasil PCR



Gambar 2. Positif kultur NTM (*Non Tuberculous Mycobacteria*) tipe slow-growing nonphotochromogen.

PEMBAHASAN

Masuknya bakteri TB ke dalam LCS didapatkan karena bakteremia oleh fokal infeksi pada paru, Rock et al. (2008), tetapi berdasarkan data diatas terlihat bahwa hampir setengah (47,1%) sampel tidak mempunyai TB paru. Penelitian ini tidak menganalisis apakah TB paru berbeda secara *significant* antara pasien dengan definitif dan *non* definitif meningitis TB karena terbatasnya jumlah sampel, tetapi beberapa penelitian menyebutkan bahwa TB paru tidak berbeda secara *significant* antara definitif dan *non* definitif meningitis TB (Pasco, 2012). Kelainan CT-scan kepala yang khas untuk meningitis TB yaitu adanya *basal meningeal enhancement* dan atau *infark* dan atau *hydrocephalus communicans* (Marais et al., 2010), ditemukan pada 64,7% sampel. Penelitian ini tidak menganalisis lebih lanjut tetapi penelitian lain menyebutkan bahwa CT-scan kepala secara *significant* berbeda antara pasien dengan definitif dan *non* definitif meningitis TB (Pasco, 2012).

Umur sampel rata-rata berada pada usia produktif dan usia reproduktif 39,59 ± 15,7 Usia tersebut merupakan suatu kondisi dimana sistem imun berada dalam puncak kematangannya. Keadaan ini bertentangan dengan teori yang menyatakan bahwa adanya meningitis TB disebabkan karena kondisi *immunocompromised* sehingga infeksi menyebar ke organ lain. Keadaan *immunocompromised* didapatkan pada usia muda maupun geriatri. Hasil ini mungkin disebabkan karena berbagai faktor yang mempengaruhi kondisi sistem imun selain usia tidak dianalisis dalam penelitian ini, misalnya status HIV dan kadar CD₄ pasien, dimana status HIV banyak terdapat pada usia produktif dan usia reproduktif (WHO, 2012).

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi

No	Pengecatan Ziehl Neelsen	Pengecatan gram	Kultur <i>Mycobacterium sp</i>	Kultur Bakteri lain	PCR <i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>
1	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
2	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
3	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
4	BTA negatif	Tidak ada kuman	positif (<i>slow-growing – nonphotochromogen</i>)	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
5	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
6	BTA positif	Diplococcus gram positif	Positif (<i>slow-growing – nonphotochromogen</i>)	Terdapat pertumbuhan <i>Coagulase Negative Staphylococcus</i>	positif
7	BTA negatif	Tidak ada kuman	Positif (<i>slow-growing – nonphotochromogen</i>)	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
8	BTA negatif	Tidak ada kuman	Positif (<i>slow-growing – nonphotochromogen</i>)	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
9	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
10	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
11	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
12	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	negatif
13	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	positif
14	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	positif
15	BTA negatif	Tidak ada kuman	Positif (<i>slow-growing – nonphotochromogen</i>)	Tidak ada pertumbuhan kuman	positif
16	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	positif
17	BTA negatif	Tidak ada kuman	negatif	Tidak ada pertumbuhan kuman	positif

Peningkatan protein LCS ada pada 82,4% sampel, penurunan glukosa LCS > 50% dibandingkan glukosa serum ada pada 76,5% sampel, sedangkan pleositosis dengan sel *mononuclear predominant* hanya terdapat pada 23,5% sampel. Peningkatan protein maupun penurunan glukosa LCS bisa disebabkan oleh infeksi *bacterial, fungal*, maupun TB. Penurunan glukosa disebabkan karena pemakaian glukosa oleh bakteri dan metabolisme oleh lekosit, sedangkan pada sistem susunan saraf pusat (SSP) terdapat suatu BBB yang tidak memungkinkan suatu glukosa dengan mudah di distribusikan ke SSP, sehingga pada meningitis baik oleh *bacterial, fungal*, maupun TB sering dijumpai suatu *hipoglycorrachia* (Venkatesh *et al.*, 2003). Pleositosis dengan sel *mononuclear predominant* merupakan patognomonis untuk meningitis TB, disebutkan pada beberapa penelitian (Bhigjee *et al.*, 2007; Pasco, 2012). Penelitian ini tidak

menganalisis peningkatan protein LCS, penurunan glukosa LCS, maupun adanya Pleositosis dengan sel *mononuclear predominant* pada definitif maupun non definitif meningitis TB karena terbatasnya jumlah sampel dan data mengenai seluler LCS merupakan data sekunder. Seluler pada LCS mudah sekali terdegradasi, suatu penelitian menyebutkan bahwa keterlambatan pemrosesan sampel > 30 menit menyebabkan perbedaan signifikan atas hasil yang didapat (Venkatesh *et al.*, 2003). Seluler LCS pada penelitian ini merupakan data sekunder sehingga peneliti tidak mengetahui apakah ada keterlambatan pada pemrosesan LCS yang dapat mempengaruhi hasil.

Penelitian ini pada tahapan ekstraksi menggunakan tindakan *shock treatment*. Kesuksesan suatu *final amplification* dan deteksi DNA tergantung dari kualitas ekstraksi yang baik. Bakteri tahan asam

dinding selnya terdiri atas komponen *hydrophobic mycolic acids*, yang merupakan komponen spesifik terbesar (50%) penyusun dinding sel bakteri. *Mycolic acids* membentuk selaput yang tebal mengelilingi bakteri. Bentuk yang kompleks dari dinding sel ini menyebabkan bakteri sukar untuk dilisis. Ekstraksi DNA TB dari sampel LCS dengan *bacterial load* yang kecil mengharuskan kita untuk melakukan suatu treatment khusus untuk dapat mengisolasi DNA dari TB. Urutan ekstraksi DNA dari sampel LCS adalah : *Shock treatment* (pemanasan atau pendinginan) untuk memperlemah dinding sel bakteri, pemberian *lysozyme* untuk menghancurkan debris protein, *chemical treatment* untuk melisis dinding sel bakteri, melakukan DNA *purification* (pemurnian DNA), serta melakukan *elution* (pelarutan). *Shock treatments* seperti pendinginan pada suhu -20°C dan pemanasan dari suspensi selama 10 menit dalam buffer yang sesuai dapat mempermudah lisis dari dinding sel bakteri. Lisis dari dinding sel juga dapat menggunakan *detergents* misalnya penggunaan *Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)*, *Triton X-100*, dan *lysozyme*. *Chemical lysis* dapat menggunakan *Proteinase K* dan *Guanidine HCl*. *Proteinase K* sangat berguna untuk menghilangkan *DNA-bound proteins* (DNA yang terikat protein) sehingga menghasilkan kualitas DNA yang baik (Thakur et al., 2011).

Penelitian ini menggunakan *real time PCR*. Beberapa penelitian menyebutkan tentang peningkatan sensitivitas pada penggunaan *Real-time PCR* dibandingkan konvensional *PCR*, disamping keuntungan yang lain dimana amplifikasi dan deteksi sekaligus dilakukan pada setiap running, jumlah DNA yang sudah diamplifikasi dapat diketahui setiap saat (*real time*), tidak ada sampel yang ditransfer, serta tidak perlu menyiapkan gel sehingga memperkecil risiko kontaminasi (Thakur et al., 2011).

Penelitian ini menggunakan *shock treatments* ekstraksi yaitu pemanasan suhu 56°C, menggunakan metode amplifikasi yang lebih sensitif (*real time PCR*), menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan yang tinggi 6000 rpm selama 15 menit sebelum sampel diekstraksi, sehingga memberikan hasil yang baik. Definitif meningitis TB mampu ditegakkan dengan pemeriksaan PCR meskipun pengecatan dan kultur negatif. Sebanyak 6 (35,5%) sampel merupakan definitif meningitis TB, dimana hanya 1 sampel dari definitif meningitis TB tersebut yang mampu ditegakkan oleh pengecatan maupun kultur.

Terdapat beberapa sampel yang hasil kulturnya positif tetapi hasil PCR-nya negatif mungkin disebabkan karena primer *IS6110* hanya mampu mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*,

M. pinnipedii) sedangkan *Mycobacterium* yang lain tidak mampu dideteksi dengan primer ini. Adanya pertumbuhan *Mycobacterium* yang bersifat *slow-growing -nonphotochromogen* tetapi bukan *Mycobacterium tuberculosis complex* masih mungkin suatu pertumbuhan *M. avium complex*, *M. celatum*, *M. ulcerans*, *M. gastri*, *M. genavense*, *M. haemophilum*, *M. malmoense*, *M. shimoidei*, *M. simiae*, *M. xenopi*, *M. terrae complex*, *M. heidebergense*, *M. branderi*, *M. triplex*, *M. Conspicuum* terdapat pada 17,64% sampel.

Dual infection terdapat dalam penelitian ini sebanyak 1(5,8%). Penelitian lain menyebutkan bahwa *dual infection* seringkali ditemukan pada kasus-kasus meningitis, sehingga disebutkan jangan merasa cukup puas jika menemukan suatu etiologi meningitis karena masih dimungkinkan ada etiologi yang lain atau bahwa kemungkinan suatu *dual infection* harus selalu dipertimbangkan pada kasus-kasus meningitis supaya pasien mendapatkan terapi lebih baik (Trung et al., 2012).

KESIMPULAN

Rata-rata pasien dengan meningitis berada dalam usia produktif, beberapa adalah definitif meningitis TB yang ditegakkan menggunakan *PCR* dengan target amplifikasi pada *IS6110 Mycobacterium tuberculosis complex*. Ditemukan pasien meningitis oleh *NTM (Non Tuberculous Mycobacteria)* dan ditemukan juga kasus *dual infection*.

SARAN

Diperlukan penelitian serupa dengan rentang waktu yang lebih lama untuk mendapatkan sampel yang lebih besar. Penggunaan primer *PCR Mycobacterium* spesifik genus untuk konfirmasi *non-Mycobacterium tuberculosis* dan menggunakan multiplex *PCR* dengan berbagai macam primer untuk mendeteksi *Mycobacterium* sampai tingkat spesies.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Prof. Dr.dr. Hendro Wahjono, DMM, MSc.Trop.Med, Sp.MK(K), Prof. Dr.dr. Winarto, DMM, Sp.MK, Sp.M(K), Prof. dr. Tri NurKristina, M.Kes, PhD, dr. Subakir, Sp.MK,Sp. KK (K), dr. Bambang Isbandrio, Sp.MK(K).

DAFTAR PUSTAKA

- Baron, E. J., Peterson, L. R. & Finegold, S. M. (eds.) 2007. *Diagnostic microbiology*, Missouri: Mosby. 590-632.
- Bhigjee, A. I., Padayachee, R., Paruk, H., Hallwirth-Pillay, K. D., Marais, S. & Connolly, C. 2007. *Diagnosis of tuberculous meningitis: clinical*

- and laboratory parameters. *Int. J. Infect Dis*, 11, 348-54.
- Caws, M., Wilson, S. M., Clough, C. & Drobniewski, F. 2000. Role of IS6110-Targeted PCR, Culture, Biochemical, Clinical, and Immunological Criteria for Diagnosis of Tuberculous Meningitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 3150-3155
- Chowdhury, M. R., Islam, K. S., Rakibuzzaman, A., Afrin, S. & Jahan, S. 2012. Sensitivity and specificity of direct and concentrated smear microscopy using culture and PCR based on IS6110 analysis for the detection of acid-fast Bacilli in suspected and having pulmonary tuberculosis. *Int. J. Biosci*, 2, 67-75.
- Deshpande, P. S., Kashyap, R. S., Ramteke, S. S., Nagdev, K. J., Purohit, H. J., TAORI, G. M. & Daginawala, H. F. 2007. Evaluation of the IS6110 PCR assay for the rapid diagnosis of tuberculous meningitis. *Cerebrospinal Fluid Res*, 4, 10.
- Halse, T. A., Escuyer, V. E. & Musser, K. A. 2011. Evaluation of a Single-Tube Multiplex Real-Time PCR for Differentiation of Members of the Mycobacterium tuberculosis Complex in Clinical Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 49, 2562-2567.
- Johansen, I. S., Lundgren, B., Tabak, F., PETRINI, B. R., Hosoglu, S., Saltoglu, N. & Thomsen, V. Ø. 2004. Improved Sensitivity of Nucleic Acid Amplification for Rapid Diagnosis of Tuberculous Meningitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 3036-3040.
- Mandell, G. L., Bennet, J. E. & Dolin, R. (eds.) 2000. *Principles and Practice of Infectious Disease*, Philadelphia: Churchill Livingstone, 997-1008.
- Marais, S., Thwaites, G., Schoeman, J. F., Török, M. E., Misra, U. K., Prasad, K. & Donald, P. R. 2010a. Tuberculous meningitis: a uniform case definition for use in clinical research. *The Lancet Infectious Diseases*, 10, 803 - 812.
- Marais, S., Thwaites, G., Schoeman, J. F., Torok, M. E., Misra, U. K., Prasad, K., Donald, P. R., Wilkinson, R. J. & Marais, B. J. 2010b. Tuberculous meningitis: a uniform case definition for use in clinical research. *Lancet Infect Dis*, 10, 803-12.
- Marx, G. E. & Chan, E. D. 2011. Tuberculous meningitis: diagnosis and treatment overview. *Tuberc Res Treat*, 2011, 798764.
- Maurya, A., Kant, S., Nag, V., Kushwaha, R. & Dhoke, T. 2012. Detection of 123 bp fragment of insertion element IS6110 Mycobacterium tuberculosis for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Indian J Med Microbiol* 30, 182-6.
- Mikrobiologi 2013. Sampel LCS dengan Meningitis TB di RSUP Dr. kariadi Periode Januari 2012-Desember 2012. Semarang: Mikrobiologi Klinik RSUP Dr.Kariadi.
- Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. & Pfaller, M. A. (eds.) 2000. Washington DC: ASM Press, 573-589.
- Noussair, L., Bert, F. D. R., Leflon-Guibout, V. R., Gayet, N. & Nicolas-Chanoine, M.-H. L. N. 2009. Early Diagnosis of Extrapulmonary Tuberculosis by a New Procedure Combining Broth Culture and PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 47, 1452-1457.
- Pasco, P. M. 2012. Diagnostic features of tuberculous meningitis: a cross-sectional study. *BMC Res Notes*, 5, 49.
- Rock, R. B., Olin, M., Baker, C. A., Molitor, T. W. & Peterson, P. K. 2008. Central Nervous System Tuberculosis: Pathogenesis and Clinical Aspects. *Clinical Microbiology Reviews*, 21, 243-261.
- Sunbul, M., Atilla, A., Esen, S., Eroglu, C. & Leblebicioglu, H. 2005. Thwaites' Diagnostic Scoring and the Prediction of Tuberculous Meningitis. *Med Princ Pract* 14, 151-154.
- Takahashi, T., Tamura, M. & Takasu, T. 2012. The PCR-Based Diagnosis of Central Nervous System Tuberculosis: Up to Date. *Tuberculosis Research and Treatment*, 17.
- Thakur, R., Sarma, S. & Goyal, R. 2011. Comparison of DNA Extraction Protocols for Mycobacterium Tuberculosis in Diagnosis of Tuberculous Meningitis by Real-time Polymerase Chain Reaction. *J Glob Infect Dis*, 3, 353-6.
- Trung, N. H. D., Phuong, T. L. T., Wolbers, M., Minh, H. N. V., Thanh, V. N. & VAN, M. P. 2012. Aetiologies of Central Nervous System Infection in Viet Nam: A Prospective Provincial Hospital-Based Descriptive Surveillance Study. *PLoS ONE*, 7, 1-15.
- Venkatesh, B., Scott, P. & Ziegefush, M. 2003. Cerebrospinal Fluid in Critical Illness. *Critical Care and Resuscitation*, 2, 42-54.
- WHO 2012. Global Tuberculosis Report 2012. France, 1-10.