**PHYLOGENY MAGNITUDE OF *Mycobacterium tuberculosis* BASED ON GENOMIC ANALYSIS**

**Budi Yanti1, Mulyadi2, Soetjipto3, Ni Made Mertaniasih4,5, Muhammad Amin6**

\*1Department of Pulmonology and Respiratory Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

2Faculty of Medicine, Nahdhatul Ulama Surabaya University

3Department of Biochemistry Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

4Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

5Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

6Department of Pulmonology and Respiratory Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

\*Corresponding Author: email: byantipulmonologis@unsyiah.ac.id

Abstract

*Mycobacterium tuberculosis* mostly obligate pathogen in humans and causes more than 2 million deaths each year with high degree of morbidity. The lineage of *Mycobacterium tuberculosis* has a level of nucleotide relevancywhich is almost similar with its inheritance. However, a broad comprehension on phylogeny magnitude of *Mycobacterium tuberculosis* based on the analysis of similarity in genomic size would be a critical point in management of tuberculosis. The significance of genetic relationship could be compared with among size of genomic, biological potential in evolution history, and pathogenesis of a disease. Each strain in the world derived from many lineages of microorganism with various genetic structure and typical virulence ability which are impacted to diagnosis of disease, powerful of treatment, and vaccination. The genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* has a special awareness because it could be a nebulous trigger for the emergence of global threats in the world such as *outbreak* of tuberculosis, MDR (*Multi Drug Resistant*) dan XDR (*Extensively Drug Resistant*) of tuberculosis.

**HIRARKI KEKERABATAN *Mycobacterium tuberculosis* BERDASARKAN ANALISIS GENOM**

**Budi Yanti1, Mulyadi1, Soetjipto2, Ni Made Mertaniasih3,4, Muhammad Amin5**

\*1Department of Pulmonology and Respiratory Medicine ,Faculty of Medicine, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

2Department of Biochemistry Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

3Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

4Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

5Department of Pulmonology and Respiratory Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

\*Corresponding Author: email: byantipulmonologis@unsyiah.ac.id

Abstrak

*Mycobacterium tuberculosis* paling banyak ditemukan pada manusia dan menjadi penyebab kematian lebih dari 2 juta orang setiap tahunnya dengan tingkat keparahan yang meningkat. Garis keturunan dari *Mycobacterium tuberculosis* memiliki tingkat kekerabatan nukleotida yang identik dengan turunannya sehingga diperlukan pemahaman yang luas tentang kekerabatan *Mycobacterium tuberculosis* berdasarkan kemiripan ukuran genom. Melalui analisis kekerabatan dapat diketahui hubungan penting antara perbandingan genom dengan relevansi potensial biologis dalam konteks evolusi dan patogenesis suatu penyakit. Setiap strain di dunia ini berasal dari garis keturunan dengan susunan genetika dan kemampuan fungsional yang beragam sehingga berpengaruh terhadap diagnosis penyakit, efektifitas pengobatan dan vaksinasi. Keragaman genetika *Mycobacterium tuberculosis* memiliki daya tarik tersendiri karena dapat menjadi pemicu terhadap munculnya ancaman global seperti *outbreak* tuberkulosis, MDR (*Multi Drug Resistant*) dan XDR (*Extensively Drug Resistant*) tuberkulosis.

**Pendahuluan**

Tuberkulosis merupakan penyakit menular pada manusia yang disebabkan oleh basil *Mycobacterium tuberculosis*. *Global Tuberculosis Report 2018* menemukan 9,6 juta kasus baru tuberkulosis di seluruh dunia, dengan perkiraan 254 kasus per 100.000 penduduk. Jumlah kasus baru tuberkulosis di Indonesia ditemukan 420.994 kasus pada tahun 2017, 2,5% meninggal setiap tahunnya, terdapat lebih dari 480.000 kejadian MDR TB dan 1,7 miliar infeksi laten ditemukan1,2. Saat ini Indonesia menempati urutan ke-3 dari 6 negara dengan kasus tuberkulosis terbanyak di dunia1. Indonesia termasuk negara *high burden countries* (HBC) berdasarkan tiga indikator yaitu TB, TB/HIV, dan MDR-TB (WHO, 2018). Diperlukan pemahaman lebih luas tentang karakteristik populasi *host*, genetika *host* dan keragaman genetik berdasarkan filogenetik patogen untuk dapat mengendalikan kejadian tuberkulosis secara adekuat 3,4.

Filogenetika merupakan sebuah model yang mempresentasikan hubungan nenek moyang dengan keturunannya dari suatu mikroorganisme. Melalui filogenetika kita dapat menentukan tingkat kekerabatan suatu makluk hidup berdasarkan pada analisis genom berbasis DNA5. Terdapat beberapa metode penentuan genome berbasis DNA seperti *whole genome sequencing* (WGS) merupakan metode yang paling sering digunakan, IS6110 DNA *finger printing* dengan analisis *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *spoligotyping*, dan *Mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat* (MIRU-VNTR) *typing*, analisis delesi genom dengan *Regions of differencers* (RDs), *Large Sequence Polymorphisms* (LSPs) dan *Single Nucleotide Polimorphisms* (SNPs)6,7.

Analisis kekerabatan spesies bakteri dilakukan melalui pendekatan teoritis dengan menentukan tingkatan kelompok bakteri tertentu berdasarkan hirarki. Belum ada kesepakatan tertentu yang digunakan untuk menentukan hirarki pada *Mycobacterium tuberculosis*, sehingga sulit menemukan hubungan yang tepat antara genotip dan fenotip antar strain dari spesies ini. Secara umum spesies terbagi menjadi beberapa garis keturunan (*lineage)*, setiap *lineage* memiliki sub*lineage* yang berbeda, *cluster* dan *family*, dan tingkatan yang paling rendah adalah strain yang memiliki sifat serupa dengan nenek moyang dari bakteri secara umum. Tingkatan mikroorganisme pada *Mycobacterium tuberculosis* juga belum memiliki nomenklatur standar untuk pengelompokan bakteri ini. Satu-satunya cara untuk dapat menentukan kekerabatan dari setiap strain *Mycobacterium tuberculosis* adalah dengan menggunakan *whole genome sequencing*, sehingga dapat mendefinisikan dengan jelas filogeni dari *Mycobacterium tuberculosis*. Sehingga nantinya dalam pembahasan ini, kerangka filogeni dengan analisis *genomes* menjadi pedoman untuk kerangka filogeni lainya dengan metode analisis yang berbeda. Berbagai penelitian tentang klasifikasi filogeni *Mycobacterium tuberculosis* telah dilakukan sehingga menghasilkan beberapa klasifikasi filogeni strain *Mycobacterium tuberculosis* yang dianalisis berdasarkan kekerabatan rangkaian nukleotida8 .

1. Filogeni berdasarkan *genomes*
2. Filogeni berdasarkan *Multi Locus sequence analysis* (MLSA)
3. Filogeni berdasarkan *Long Sequnce polymorphism* (LSP)
4. Filogeni berdasarkan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)
5. Filogeni berdasarkan *Spoligotyping*
6. Filogeni berdasarkan *Principal* Genetik *Group* (PGG)

**Pembahasan**

1. **Filogeni berdasarkan *genomes***

Filogeni ini disusun berdasarkan studi epidemiologi dengan menggunakan analisis multilokus *sequence* nukloetida *Mycobacterium tuberculosis*, melalui teknik  *Clustered Regulatory Short Palindromic Repeats* (CRISPR) dan *Variable Number Tandem Repeats* (VNTR) yang lebih tepatnya dikenal dengan *spoligotyping* dan MIRU-VNTR9. Teknik CRISPR menandai region gen bakteri secara langsung, berulang dan berkala di region gen yang pendek dan unik dikenal dengan *spacer*, teknik ini juga dapat menunjukkan sejumlah *spacer* yang berperan pada kerentanan terhadap *bacteriophage*10*.* Teknik VNTR dapat membandingkan rangkaian DNA pendek pada posisi yang berbeda dari genom bakteri setiap strain. Kedua teknik *genotyping* ini juga dapat menelusuri rantai penularan tuberkulosis, membedakan kasus kambuh dan infeksi berulang dan dapat mengidentifikasi kontaminasi silang di laboratorium12 .

Kerangka filogenetik disusun secara ringkas melalui analisis 108 strain *Mycobacterium tuberculosis*. Filogeni ini memiliki kesamaan dengan filogeni strain yang dianalisis dengan metode *large sequence polymorphisms* (LSPs). Karena *Mycobacterium tuberculosis* secara genetik menunjukkan tingkat kekerabatan yang sangat dekat, Klasifikasi ini menunjukkan hasil analisis MIRU-VNTR dan LSP yang hampir sama dan disimpulkan bahwa kerangka filogeni ini memiliki dasar yang kokoh untuk klasifikasi strain *Mycobacterium tuberculosis* dan penggolongannya berdasarkan garis keturunan (*lineage)* 9,13*.*

Comas *et al*9 menyusun kerangka filogeni *Mycobacterium tuberculosis* yang menginfeksi manusia menjadi enam garis keturunan yaitu garis keturunan 1 hingga 6. Pada kerangka filogeni *Mycobacterium tuberculosis* ini dibagi menjadi beberapa garis keturunan dan strain dengan nomenklatur yang berbeda berdasarkan analisis *spoligotyping*. Misalnya strain EAI (*East-African-Indian*) merupakan strain dari garis keturunan 1, strain AFR1 dan AFR2 merupakan strain dari garis keturunan 5 dan 6, dimana strain ini dikenal dengan strain *Mycobacterium africanum*, strain CAS (*Central-Asia*n) merupakan strain dari garis keturunan 3. Terdapat beberapa kelompok strain hasil dari analisis *spoligotyping* berada dibawah garis keturunan utama seperti *family* strain Beijing merupakan kelompok strain dari garis keturunana 2, dan strain Cameroon, Uganda, X, Haarlem dan LAM (*Latin-American-Mediterania*) adalah kelompok strain dibawah garis keturunan utama dari garis keturunan 49. Kerangka filogeni ini juga disesuaikan dengan analisis filogeni Sreevatsan *et al*14 berdasarkan analisis polimorfisme dua gen penyandi, Nenek moyang *Mycobacterium tuberculosis* dibagi menjadi tiga kelompok *principal genetic group* (PGG). *Mycobacterium tuberculosis* pada garis keturunan 1, 5, 6, 3, dan 2 merupakan organisme yang masuk pada PGG1. Strain *Mycobacterium tuberculosis* pada garis keturunan 4 merupakan organisme yang masuk pada PGG2, dan strain H37Rv, T16, T78, T38, dan T60 merupakan kelompok strain yang masuk pada PGG314.

1. **Filogeni Berdasarkan *Multi Locus Sequence Analysis* (MLSA)**

*Mycobacterium tuberculosis* yang menginfeksi manusia secara genetik lebih beragam daripada yang diperkirakan sebelumnya, dan keanekaragaman ini berhubungan dengan letak demografis dan perpindahan manusia14,15. *Mycobacterium* mengalami sedikit seleksi pemurnian sehingga sangat sering ditemukan pergeseran genetik yang mengakibatkan keragaman fungsi dari *Mycobacterium* itu sendiri. Peningkatan populasi manusia, urbanisasi, perjalanan lintas negara, dan keragaman genetik populasi *Mycobacterium tuberculosis* dapat menjadi penyebab kemunculan dan penyebaran TB yang resistan terhadap obat.

Kerangka filogeni ini disusun berdasarkan analisis data dari sejumlah perangkat besar rangkaian gen penyandi yang dikumpulkan secara global. *Mycobacterium* yang menginfeksi hewan dimasukkan ke dalam kerangka filogeni *Mycobacterium tuberculosis* secara keseluruhan, diketahui meskipun strain yang menginfeksi hewan ini berbeda secara ekotipe, akan tetapi *Mycobacterium* ini juga dapat mewakili sebagian dari keragaman genetik yang ditemukan di semua *Mycobacterium tuberculosis* yang menginfeksi manusia16. Kerangka filogeni yang disusun berdasarkan analisis MLSA membagi *Mycobacterium tuberculosis* menjadi garis keturunan *Philippines, Indian Ocean, West Africa* 1 dan 2*, India* dan *East Africa*, *East Asia, Europe* dan *Americas*. Setiap kelompok strain diberi label sesuai dengan dominasinya di wilayah geografis tertentu. *M. canetti* memiliki banyak perbedaan dengan *Mycobacterium tuberculosis*, sehingga garis percabangan terpotong menunjukkan pemisahan kelompok *Mycobacterium tuberculosis* ini dengan *M. canetti*. Kelompok strain *ancient* seperti *Philippines, India Ocean,* dan *West Africa* melakukan penyebaran melalui laut dan kelompok strain modern seperti *India* dan *East Africa, East Asia,* dan *Europe* dan *Americas* melakukan penyebaran melalui daratan16.

1. **Filogeni berdasarkan *Long Sequence polymorphism* (LSP)**

Kerangka filogeni ini menunjukkan hubungan spesifik satu sama lain dan bersama nenek moyang dengan riwayat evolusi pada populasi yang sama yaitu manusia, filogeni ini disusun berdasarkan analisis delesi genom yang dilakukan pada 875 strain yang berasal dari 80 negara, didapatkan enam garis keturunan utama dari *Mycobacterium tuberculosis* yaitu garis keturunan *East Asian, East-Afrcican-Indian, Euro-American, Indo-Oceanic, West African-1* dan *West African 2*13*.*

Beberapa dari garis keturunan ini memiliki kelompok strain yang sama seperti yang telah dilaporkan oleh studi sebelumya. Misal, *Indo-oceanic* termasuk kelompok strain *ancient* karena secara fakta ditemukan region gen TbD1 yang tidak ditemukan pada kelompok strain modern seperti *East-Asia* termasuk *family* strain Beijing. *West-African* 1 dan 2 masuk pada kelompok strain *Mycobacterium africanum* dan Euro-America dimasukkan dalam pengelompokan strain secara prinsip kelompok genetik 2 dan 3 sesuai klasifikasi Sreevatsan *et al14*.

Gagneux *et al* dalam studi ini ini juga menunjukkan populasi genetik *Mycobacterium tuberculosis* berhubungan dengan struktur geografik tertentu sehingga nama dari setiap *lineage* merefleksikan hubungan geografik ini. Misalnya, garis keturunan *East-Asian* sangat banyak ditemukan di negara-negara Asia Timur, garis keturunan *Indo-Oceanic* banyak terdapat di sekitar Samudera Hindia. Garis keturunan *Euro-America* sering didapatkan di Eropa dan Amerika, sub*lineage* dari turunan ini juga mendominasi di daerah Afrika dan Timur Tengah13.

1. **Filogeni berdasarkan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)**

Filogeni ini disusun berdasarkan analisis pada 36 *Synonymous Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) dari 5069 isolat *Mycobacterium tuberculosis* di empat populasi yang berbeda yatu New York, New Jersey, Houston, dan Finlandia. Didapatkan Sembilan klaster dengan satu klaster baru dinamakan II.A, pada kerangka filogenetik klaster ini terletak antara II dan III klaster. Klasifikasi Klaster ini memiliki hubungan dengan tiga *Principal Genetic Group* (PGG) klasifikasi Sreevatsan *et al*., yaitu bahwa organisme PGG 1 masuk ke dalam klaster I dan II, organisme PGG2 masuk ke dalam klaster III dan VI, dan organisme PGG3 masuk ke dalam klaster VII dan VIII 17.

1. **Filogeni berdasarkan *Spoligotyping***

Klasifikasi ini mendeskripsikan kekerabatan *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan analisis *spoligotype* dari sembilan *clade* yang berbeda. *Clade* menunjukkan silsilah organisme dan semua turunannya secara menyeluruh dimulai dari nenek moyang hingga semua *species* turunannya18. Dari total 13.008 isolat dengan pola spoligotipe dikelompokkan menjadi 813 tipe yang sama dengan 90% menunjukkan isolat yang utuh. Untuk mendapatkan klasifikasi yang lebih baik, maka dibuat enam aturan utama yang diklasifikasikan mulai dari A hingga F. Berdasarkan enam aturan ini menghasilkan 36 *clade* utama dari isolat *Mycobacterium tuberculosis*. Beberapa *clade* utama yang berhasil diidentifikasi yaitu *clade* Beijing, *clade* *East African-Indian* (EAI), *clade* Harleem, *clade* *Latin American* dan *Meditrania* (LAM), *clade* *Central Asian* (CAS), *clade* Eropa dengan penanda IS6110 rendah, *clade* X sangat banyak ditemukan di *United States* dan *United Kingdo*m, *clade* T ditandai dengan ketiadaan *spacer* 33-36. Selain itu dengan menggunakan enam aturan utama didapatkan juga klasifikasi sembilan kelompok strain yaitu *Mycobacterium africanum,* Beijing, *M. bovis*, EAI, CAS, T, Haarlem, X, and LAM menunjukkan kemiripan 96.9% berdasarkan kekerabatan filogenetik dari *family* dari *Mycobacterium tuberculosis* 19.

Strain Beijing merupakan salah satu penyebab dari resistensi obat tuberkulosis di dunia. Peningkatan prevalensi dari strain ini menjadi isu penting dalam pengendalian tuberkulosis. Hal menarik lainnya dari *spoligotype* *clade* ini adalah strain *Mycobactrium africanum* memiliki proporsi yang tinggi yaitu 6% dari semua tipe *Mycobacterium tuberculosis* di Afrika18,19.

1. **Filogeni berdasarkan *Principal Genetic Group* (PGG)**

Kerangka filogeni disusun berdasarkan analisis polimorfisme pada dua gen penyandi *catalase-peroxidase* dan *gyrase* subunit A dan mengidentifikasi tiga kelompok genetik *Mycobacterium tuberculosis20.* Kerangka filogeni ini merupakan hasil analisis dari 6000 isolat yang diambil dari pasien di Houston dan New York ditemukan 48 *cluster* besar yang dikelompokkan berdasarkan genotipnya menjadi *Principal Genetic Group* (PGG) 1, 2, dan 3. Pengamatan pada PGG ini menunjukkan bahwa setiap organisme mengalami penurunan daya penularan dan virulensi. Organisme kelompok 1 yaitu PGG1 termasuk didalamnya yaitu strain khusus isolat *M. bovis*, *New York city* IS6110 tipe strain W, Houston IS6110 tipe 002, 003,007, 015 dan 003 merupakan kelompok strain dengan riwayat evolusi dan sifat yang sama dengan *M. bovis*, penyebab dari *Bovine Tuberculosis*. Strain *Mycobacterium tuberculosis* yang termasuk kedalam PGG2 yaitu strain Erdman, *New York city* strain C, Houston IS6110 tipe 004, 006, 016, 020, dan 030. Strain *Mycobacterium tuberculosis* yang termasuk kedalam PGG3 yaitu strain H37Ra, H37Rv dan strain Houston IS6110 tipe 00114.

Pengamatan pada serangkaian data menunjukkan bahwa varian *codon* katG 463 dan gyrA *codon* 95 menunjukkan kejadian polimorfisme yang tinggi. Dua *codon* ini tidak menunjukkan keterlibatan dengan resistensi antibiotik21,23, karenanya digunakan sebagai penanda genetik yang mampu merekam riwayat keragaman organisme. Semua anggota *Mycobacterium tuberculosis* *complex* dimasukkan ke dalam salah satu dari tiga kelompok PGG yang berbeda berdasarkan lokasi polimorfisme yang terjadi pada dua lokasi gen. Isolat *M. bovis , M. microti* dan *M. africanum* dianalisis polimorfisme dan menunjukkan karakteristik yang sama dengan PGG 1, sebaliknya isolat *Mycobacterium tuberculosis* dimasukkan ke setiap kelompok genetik14.

**Kesimpulan**

Dari berbagai model kerangka filogenetik *Mycobacterium tuberculosis* yang disusun berdasarkan analisis *genomes*, MLSA, LSP, SNP, *spoligotyping*, dan PGG. Berikut ini tabel ringkasan kerangka filogeni *Mycobacterium tuberculosi*s secara keseluruhan. Tabel 1. Menunjukkan ringkasan kekerabatan *Mycobacterium tuberculosis* yang identik antar strain melalui berbagai metode analisis genom.

Tabel 1. Filogeni *Mycobacterium tuberculosis* berdasarkan analisis *genomes* disesuaikan dengan kerangka filogeni lainnya dengan analisis yang berbeda

|  |
| --- |
| **FILOGENI** |
|  ***Genomes*** | ***Multi Locus Sequence Analysis (MLSA)*** | ***Long Sequence Polymorphism (LSP)*** | ***Single Nucleotide Polymorphism (SNP)*** | ***Spoligotyping*** | ***Principal Genetic Group (PGG)*** |
| *Lineage 2* | *East asia* | *East-Asian* | *Cluster II* | *Beijing, ST523, ST623* | PGG1 |
| *Lineage 3* | *India and East Africa* | *East- African-Indian* | *Cluster IIA* | *CAS (Central Asian)* | PGG1 |
| *Lineage 4* | *Europe and Americas* | *Euro-American* | *Cluster III and VII* | *X, Harleem, LAM, Uganda* | PGG2-PGG3 |
| *Lineage 1* | *Rim of Indian Ocean-the philppines* | *Indo-Oceanic* | *Cluster I* | *EAI (East-African-Indian* | PGG1 |
| *Lineage 5* | *West Africa* | *M. Africanum**West-African1* | *-* | *AFR1* | PGG1 |
| *Lineage 6* | *West Africa* | *M. africanum**West-African2* | *-* | *AFR2* | PGG1 |

**Daftar Pustaka**

1. WHO. Global Tuberculosis Report. ; 2018.
2. Kemenkes, 2018. Tuberkulosis, jakarta Selatan: Kementrain Kesehatan.
3. Lonnroth K. Jaramillo E. Williams BG. Dye C. Raviglione. M. Drivers of tuberculosis epidemics: the role of risk factors and social determinants. Soc Sci Med. 2009; 68(12): 2240-6.
4. Abel L. El-Baghdadi J. Bousfiha AA. Casanova JL. Schurr E. Human genetics of tuberculosis: a long and winding road. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2014; 369(1645): 1-11.
5. Alland D. Whittam TS. Murray MB. Cave MD. Hazbon MH. Dix K. Kokoris M. Duesterhoeft A. Eisen JA. Fraser CM. Fleischmann RD. Modeling bacterial evolution with comparative-genome-based marker systems: application to Mycobacterium tuberculosis evolution and pathogenesis. J Bacteriol. 2003;185(11): 3392-9..
6. Tsolaki AG. Gagneux S. Pym AS. de la Salmoniera GYL. Kreiswirth BN. van Soolingen D. Small PM. Genomic deletions classify the beijing/W strains as a distinct genetic lineage of. J Clin Microbiol. 2005; 43: 3185–91.
7. Merker M. Kohl TA. Niemann S. Supply P. The evolution of strain typing in the Mycobacterium tuberculosis Complex. In: S. Gagneux, ed. Strain variation in the Mycobacterium tuberculosis Complex: Its Role in Biology, Epidemiology and control. Switzerland: Springer. 2017. 43-78.
8. Coscolla M. Gagneux S. Does M. tuberculosis genomic diversity explain disease diversity? Drug Discov Today Dis Mech. 2010; 7(1):.e43-59.
9. Comas I. Homolka S. Niemann S. Gagneux S. Genotyping of genetically monomorphic bacteria: DNA sequencing in Mycobacterium tuberculosis highlights the limitations of current methodologies. PLoS One. 2009; 4(11):1-11.
10. Mazars E. Lesjean S. Banuls AL. Gilbert M. Vincent V. Gicquel B. Tibayrenc M. Locht C. Supply P. High-resolution minisatellite-based typing as a portable approach to global analysis of Mycobacterium tuberculosis molecular epidemiology. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001; 98(4): 1901-6.
11. Kamerbeek J. Schouls L. Kolk A. van Agterveld M. van Soolingen D. Kuijper S. Bunschoten A. Molhuizen H. Shaw R. Goyal M. van Embden J. Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology. J Clin Microbiol. 1997; 35(4): 907-14.
12. Lindstedt B.. Multiple-locus variable number tandem repeats analysis for genetic fingerprinting of pathogenic bacteria. Electrophoresis, Volume 2613, pp. 2567-8.
13. Gagneux, S. et al., 2006. Variable host-pathogen compatibility in Mycobacterium tuberculosis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005; 103(8): 2869-73.
14. Sreevatsan S. Pan X. Stockbauer KE. Connell ND. Kreiswirth BN. Whittam TS. Musser JM. Restricted structural gene polymorphism in the Mycobacterium tuberculosis complex indicates evolutionarily recent global dissemination. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997; 94(18): 9869-74.
15. Musser J. Amin A. Ramaswamy S. Negligible genetic diversity of mycobacterium tuberculosis host immune system protein targets: evidence of limited selective pressure. Genetics. 2000; 155(1): 7-16.
16. Hershberg R. Lipatov M. Small PM. Sheffer H. Niemann S. Homolka S. Roach JC. Kremer K. Petrov DA. Feldman MW. Gagneux S. High functional diversity in Mycobacterium tuberculosis driven by genetic drift and human demography. PLoS Biol. 2008; 6(12): 1-14.
17. Gutacker M. Mathema B. Soini H. Shashkina E. Kreiswirth BN. Graviss EA. Musser JM. Single-nucleotide polymorphism-based population genetic analysis of Mycobacterium tuberculosis strains from 4 geographic sites. J Infect Dis. 2006; 193(1): 121-8.
18. Reiling N. Homolka S. Walter K. Brandenburg J. Niwinski L. Ernst M. Herzmann C. Lange C. Diel R. Ehlers S. Niemann S. Clade-specific virulence patterns of Mycobacterium tuberculosis complex strains in human primary macrophages and aerogenically infected mice. MBio. 2013; 4(4): 250-13.
19. Filliol I. Driscoll JR. van Soolingen BN. Kreiswirth K. Kremer G. Valétudie DA. Dang R. Barlow D. Banerjee PJ. Bifani K. Brudey A. Cataldi RC. Cooksey DV. Cousins JW. Dale OA. Dellagostin F. Drobniewski G. Engelmann S. Ferdinand D. Snapshot of moving and expanding clones of Mycobacterium tuberculosis and their global distribution assessed by spoligotyping in an international study. J Clin Microbiol. 2003; 41(5): 1963-70.
20. Musser JM. Kapur V. Williams DL. Kreiswirth BN. van Soolingen D. van Embden JD. Characterization of the catalase-peroxidase gene (katG) and inhA locus in isoniazid-resistant and -susceptible strains of Mycobacterium tuberculosis by automated DNA sequencing: restricted array of mutations associated with drug resistance. J Infect Dis. 1996; 173(1): 196-202.
21. Rouse DA. DeVito JA. Li Z. Byer H. Morris SL.. Site-directed mutagenesis of the katG gene of Mycobacterium tuberculosis: effects on catalase-peroxidase activities and isoniazid resistance. Mol Microbiol. 1996; 22(3): 583-92.
22. Takiff HE. Salazar L. Guerrero C. Philipp W. Huang WM. Kreiswirth B. Cole ST. Jacobs WR. Jr Telenti A. Cloning and nucleotide sequence of Mycobacterium tuberculosis gyrA and gyrB genes and detection of quinolone resistance mutations. Antimicrob Agents Chemother. 1994; 38(4):773-38