

## DETEKSI *Non Tuberculosis Mycobacteria* SAMPEL SPUTUM SUSPEK TUBERKULOSIS DENGAN TARGET GEN 16S rRNA

Kasmuddin Darmo\*<sup>1</sup>, Eliyana<sup>2</sup>, Arlitha Dekayana<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Universitas Megarezky Prodi DIV TLM

Corresponding Author

Email: [Kamuddindarmo@gmail.com](mailto:Kamuddindarmo@gmail.com)

### ABSTRACT

Tuberculosis is not only caused by *Mycobacterium tuberculosis* bacteria but tuberculosis can also occur due to several infections from *Non Tuberculosis Mycobacteria* bacteria. The transmission of *Non Tuberculosis Mycobacteria* in humans is mainly acquired from the environment, although the mode of transmission remains unclear. Underlying health conditions, such as chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pneumoconiosis, bronchiectasis, previous history of tuberculosis, post-radiotherapy fibrosis, chronic pulmonary aspiration, cystic fibrosis (CF), immunodeficiency, HIV infection, alcoholism, cancer, and diabetes mellitus (DM) pose significant risks for infection from *Non Tuberculosis Mycobacteria*. The purpose of this study was to detect the presence of *Non Tuberculosis Mycobacteria* from sputum samples of tuberculosis suspects with the target of the 16 rRNA gene using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. This type of research used in this study used descriptive research with a cross sectional research design. Data collection of PCR results in the form of DNA bands were documented and determined the size of base pairs of 16S rRNA gene target 506 bp to detect *Non Tuberculosis Mycobacteria*, rv0577 target 705 bp to detect *Mycobacterium tuberculosis complex* and RD9 target 369 bp to detect *Mycobacterium tuberculosis*. The results showed that from 15 sputum samples suspected of tuberculosis, 10 (66%) positive samples identified *Non Tuberculosis Mycobacteria* and 1 (6%) sample detected 3 types of *Mycobacterium* namely *Non Tuberculosis Mycobacteria*, *Mycobacterium tuberculosis complex*, and *Mycobacterium tuberculosis*.

**Key words:** *Non Tuberculosis Mycobacteria*, gen 16 rRNA, Polymerase Chain Reaction.

### ABSTRAK

Tuberkulosis tidak hanya disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* akan tetapi tuberkulosis juga dapat terjadi karena beberapa infeksi dari bakteri *Non Tuberculosis Mycobacteria*. Penularan *Non Tuberculosis Mycobacteria* pada manusia terutama didapat dari lingkungan, meskipun cara penularannya masih belum jelas. Kondisi kesehatan yang mendasari, seperti penyakit paru obstruktif kronik (PPOK), pneumokoniosis, bronkiektasis, riwayat TBC sebelumnya, fibrosis pasca radioterapi, aspirasi paru kronik, *cystic fibrosis* (CF), defisiensi imun, infeksi HIV, alkoholisme, kanker, dan diabetes melitus (DM) menimbulkan risiko signifikan terhadap infeksi dari bakteri *Non Tuberculosis Mycobacteria*. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendeteksi adanya *Non Tuberculosis Mycobacteria* dari sampel sputum suspek tuberkulosis dengan target gen 16 rRNA dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pengumpulan data hasil PCR berupa pita-pita DNA didokumentasikan dan ditentukan ukuran pasang basa gen 16S rRNA target 506 bp untuk mendeteksi *Non Tuberculosis Mycobacteria*, rv0577 target 705 bp untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis complex* dan RD9 target 369 bp untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 15 sampel sputum suspek tuberkulosis, didapatkan 10 (66%) sampel positif yang teridentifikasi *Non Tuberculosis Mycobacteria* dan 1 (6%) sampel yang terdeteksi 3 jenis *Mycobacterium* yaitu *Non Tuberculosis Mycobacteria*, *Mycobacterium tuberculosis complex*, dan *Mycobacterium tuberculosis*.

**Kata kunci :** *Non Tuberculosis Mycobacteria*, gen 16 rRNA, Polymerase Chain Reaction.

### PENDAHULUAN

Tuberkulosis merupakan salah satu penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis complex*. Tuberkulosis masih menjadi penyakit pembunuh utama di seluruh dunia, terutama di negara-negara berkembang yang meskipun terdapat kemajuan besar dalam diagnosis dan

pengobatannya akan tetapi negara-negara ini juga tidak luput dari tuberkulosis. Terdapat hambatan utama dalam mendiagnosis tuberkulosis yaitu gambaran dari bakteri yang menginfeksi penyebab tuberkulosis yang tidak khas dan sering kali menyerupai neoplasia atau kelainan dalam inflamasi. Tuberkulosis tidak hanya disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* akan tetapi

tuberkulosis juga dapat terjadi karena beberapa infeksi dari bakteri *Non Tuberculosis Mycobacteria*

Bakteri Non Tuberkulosis Mycobacteria umumnya merupakan organisme yang hidup bebas yang ada diberbagai lingkungan. Terdapat lebih dari 190 spesies bakteri yang masuk di dalam non Mycobacterium tuberculosis yang teridentifikasi hingga saat ini. Akan tetapi data mengenai populasi dari bakteri Non Tuberkulosis Mycobacteria masih sangat jarang. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai macam infeksi mikobakteri, dan disisi lain juga dapat infeksi bagian organ tubuh manusia yaitu pada organ paru yang dengan rentan infeksi dapat mencapai 65 – 90% (Porvaznik *et al.*, 2017).

Tingginya kasus kasus tuberkulosis di Makassar, perlu dilakukan perhatian akan adanya infeksi *Non-Tuberculosis Mycobacteria (NTM)* sehingga tidak salah dalam mendiagnosis dan menggolongkan antara kasus Mycobacterium tuberculosis dengan kasus *Non-Tuberculosis Mycobacteria (NTM)*. Regimen antibiotik standar untuk pengobatan tuberkulosis yang sensitif terhadap obat mengandung isoniazid (INH), rifampisin (RIF), pirazinamid (PZA), dan etambutol (ETH), yang diberikan minimal 6 bulan. Namun, pengobatan pada kasus tuberkulosis yang resistan terhadap banyak obat memerlukan antibiotik tambahan untuk jangka waktu yang lama. Sebaliknya, penyakit Non Tuberkulosis Mycobacteria tidak merespon terhadap obat anti tuberkulosis (OAT). Pengobatan penyakit *Non Tuberculosis Mycobacteria* mengikuti pedoman khusus, berdasarkan sifat bakteri yang menginfeksi, dan memerlukan identifikasi spesies. Berbeda dengan tuberkulosis, pengobatan penyakit Non Tuberkulosis Mycobacteria dapat memakan waktu setidaknya 18 bulan, dengan masa sputum negatif 12 bulan. Baik pada penyakit paru seperti tuberkulosis maupun bakteri *Non Tuberculosis Mycobacteria (NTM)*, karakteristik bakteri dan faktor penjamu yang mempengaruhi kerentanan dan manifestasi terhadap infeksi serta hasil pengobatan (Gopalswamy *et al.*, 2020)

Gen 16S rRNA merupakan salah satu gen yang banyak digunakan dalam proses identifikasi berbagai jenis bakteri dengan akut dalam berbagai penelitian. Gen 16S rRNA memiliki keakuratan yang tinggi dalam mengidentifikasi suatu jenis bakteri. Sitepu

dkk, (2022) mengungkapkan bahwa pemilihan gen 16S rRNA dalam proses identifikasi Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium tuberculosis complex, dan Non Tuberkulosis Mycobacteria dapat digunakan karena memiliki urutan conserved (basa nukleotida yang bersifat lestari) sehingga sangat spesifik dan juga identik pada setiap masing-masing spesies yang ditemukan (Akihary & Kolondam, 2020)

## **METODE**

### **Waktu dan Tempat**

Lokasi pengambilan sampel dan analisis Laboratorium dilakukan di *Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC)*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober-Desember 2023

### **Alat dan Bahan**

#### **Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut: mikropipet, rak tabung, tube microcentrifuge, tube PCR 0,2 ml, Spin down (Profuge 6000), mesin PCR (BIO-RAD Real Time System CFX96), botol schoot duren (Approx), sendok tanduk, timbangan (Kern 440-47N), gelas ukur 100 ml (Approx), oven/microwafe (Electrolux), cetakan agarose (BIO-RAD), elektroforesis (BIO-RAD) dan gel doc (BIO-RAD).

#### **Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim tag polymerase, NFW (*Nuclease Free Water*), Primer (gen 16S rRNA, rv0577, RD9), gen 16S rRNA (Primer Forward: 5' GAGATACTCGAGTGGCGAAC 3'), (Primer Reverse: 5' CAACGCGACAAACCACCTAC 3') 506 bp untuk mendeteksi *Non Tuberculosis Mycobacteria*, rv0577 (Primer Forward : 5' ATGCCCAAGAGAAGCGAATACA 3'), (Primer Reverse: 5' AATGTCAGCCGGTTCCGCAA 3') 705 bp untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis complex*, RD9 (Primer Forward : 5' GTGTAGGTCAGCCCCATCC 3' 3'), (Primer Reverse: 5' GTAAGCGCGTGGTGTGGA 3')

369 bp untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* (Ohara *et al*, 1993), H<sub>3</sub>7RV (kontrol positif), *aquades* (kontrol negatif), sampel sputum, bubuk agarose, *buffer* TBE, Ethidium bromida (*Gel red*), dan marker (DNA leader).

#### Analisis Data

Teknik analisis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pengolahan data dalam bentuk gambar dan tabel. Pengumpulan data hasil PCR berupa pita-pita DNA didokumentasikan dan ditentukan ukuran pasang basa gen 16S rRNA target 506 bp untuk mendeteksi *Non Tuberculosis Mycobacteria*, rv0577 target 705 bp untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis complex* dan RD9 target 369 bp untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*.

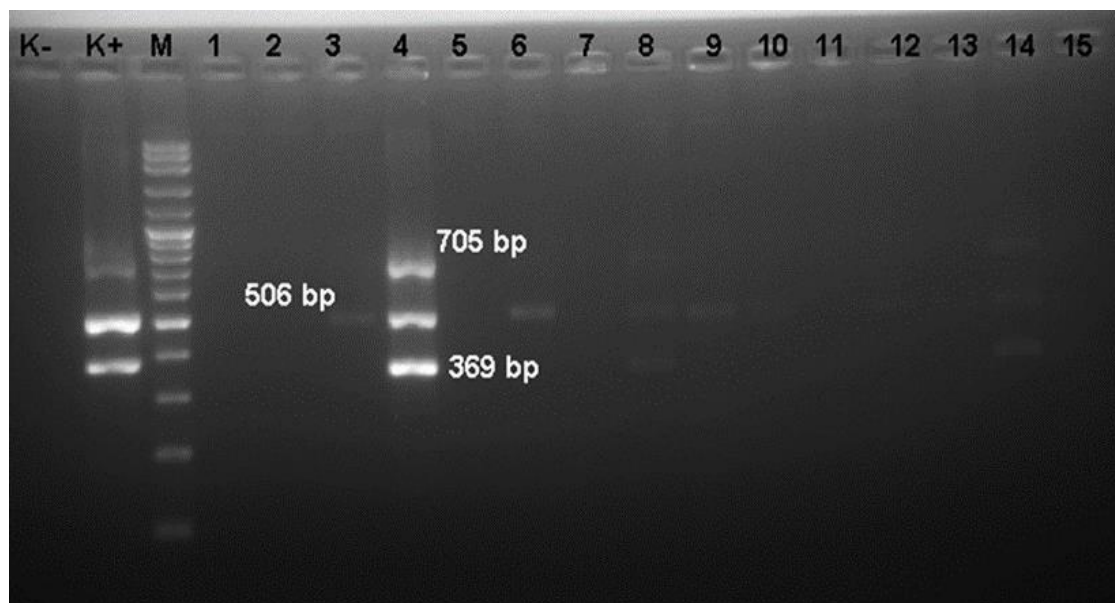
### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi *Non Tuberculosis Mycobacteria* dari sampel sputum suspek tuberkulosis dengan target gen 16S rRNA menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada bulan Oktober-Desember 2023 di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang terdiri dari 15 sampel sputum suspek tuberkulosis.

### 1. Hasil Visualisasi Elektroforesis dengan menggunakan Gel Agarose

Hasil visualisasi produk PCR dianalisis dengan menggunakan elektroforesis gel agarose 2%. Pada setiap gel di kontrol positif, kontrol negatif dan marker 100 bp, dengan menggunakan pasangan primer gen 16S rRNA target 506 bp untuk mendeteksi *Non Tuberculosis Mycobacteria*, rv0577 target 705 bp untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis complex* dan RD9 target 369 bp untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*

Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa terdapat 15 sampel isolat, kontrol positif dan kontrol negatif serta marker 100bp di dapatkan hasil bahwa pada target pita 506 bp terdeteksi 9 sampel yang menandakan bahwa sampel tersebut terdeteksi *Non Tuberculosis Mycobacteria*. Pada target pita 705 bp terdeteksi 1 sampel positif yang menandakan bahwa sampel tersebut terdeteksinya *Mycobacterium tuberculosis complex*. Serta didapatkan hasil bahwa pada target pita 369 bp terdeteksi 1 sampel positif yang menandakan bahwa sampel tersebut terdeteksi *Mycobacterium tuberculosis*



**Gambar 1.** Hasil visualisasi DNA produk PCR *Non Tuberculosis Mycobacteria*, *Mycobacterium tuberculosis complex* dan *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan elektroforesis gel agarose (Sumber; data Primer(Penelitian)).

**2. Hasil PCR Pemeriksaan Sputum Suspek Tuberkulosis**

Hasil pemeriksaan sputum pada suspek tuberkulosis dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* menunjukkan bahwa pemeriksaan sputum suspek tuberkulosis yang dilakukan di *Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)* Fakultas Kedokteran Universitas

Hasanuddin ternyata terdapat 10 sampel yang terdeteksi masuk dalam kategori *Non Tuberculosis Mycobacteria*, 1 sampel yang terdeteksi masuk dalam kategori *Mycobacterium tuberculosis complex* dan 1 sampel yang terdeteksi masuk dalam kategori *Mycobacterium tuberculosis*. Hasil dari pemeriksaan sputum pada suspek tuberkulosis dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil pemerikassan sputum suspek tuberkulosis dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Kode sampel	Hasil PCR		
	<i>Non Tuberculosis Mycobacteria</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
	Target 506 bp	Target 705 bp	Target 396 bp
1	Negatif (-)	Negatif (-)	Negatif (-)
2	Negatif (-)	Negatif (-)	Negatif (-)
3	Positif (+)	Negatif (-)	Negatif (-)
4	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)
5	Negatif (-)	Negatif (-)	Negatif (-)
6	Positif (+)	Negatif (-)	Negatif (-)
7	Negatif (-)	Negatif (-)	Negatif (-)
8	Positif (+)	Negatif (-)	Negatif (-)
9	Positif (+)	Negatif (-)	Negatif (-)
10	Positif (+)	Negatif (-)	Negatif (-)
11	Positif (+)	Negatif (-)	Negatif (-)
12	Positif (+)	Negatif (-)	Negatif (-)
13	Positif (+)	Negatif (-)	Negatif (-)
14	Positif (+)	Negatif (-)	Negatif (-)

15	Negatif (-)	Negatif (-)	Negatif (-)
----	-------------	-------------	-------------

Sumber; Data Primer (Penelitian)

Dari hasil pemeriksaan sputum pada suspek tuberkulosis dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) juga menunjukkan bahwa 10 sampel positif yang teridentifikasi *Non Tuberculosis Mycobacteria*

dan ada 1 sampel sputum yang terdeteksi 3 jenis *Mycobacterium* yaitu *Non Tuberculosis Mycobacteria*, *Mycobacterium tuberculosis complex*, dan *Mycobacterium tuberculosis*.

**Tabel 2.** Presentasi hasil pemerikassan sputum suspek tuberkulosis dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Bakteri	Presentasi (%)
<i>Non Tuberculosis Mycobacteria</i>	66%
<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>	6%
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6%

Pada Tabel 2 menunjukkan hasil presentasi pemeriksaan sputum pada suspek tuberkulosis dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menunjukkan bahwa terdapat 10 (66%) sampel yang terdeteksi masuk dalam kategori *Non Tuberculosis Mycobacteria*, 1 (6%) sampel yang terdeteksi masuk dalam kategori *Mycobacterium tuberculosis complex* dan 1 (6%) sampel yang terdeteksi masuk dalam kategori *Mycobacterium tuberculosis*.

tuberkulosis. Adapun banyaknya sampel yang digunakan adalah 15 sampel yang telah mendapat persetujuan untuk dijadikan sebagai subjek penelitian. Adapun kontrol yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kontrol positif dengan menggunakan H<sub>3</sub>7RV dan kontrol negatif dengan menggunakan *aquades*.

Untuk mendeteksi *Non Tuberculosis Mycobacteria* dari sputum suspek tuberkulosis maka dilakukan penelitian di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada bulan Desember 2023 dengan menggunakan Teknik pengumpulan data sekunder dari pasien suspek tuberkulosis paru yang berada di *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Sampel penelitian berupa sputum dari suspek tuberkulosis yang kode dengan gen 16S rRNA dilakukan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sehingga dapat dengan mudah mendeteksi *Non Tuberculosis Mycobacteria* dari suspek

Pada penelitian ini dapat dilihat hasil dari *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang dilanjutkan dengan pembacaan visualisasi elektroforesis dari 15 sampel sputum suspek tuberkulosis yang menunjukkan beberapa hasil deteksi diantaranya ditemukan adanya pasien yang terinfeksi *Non Tuberculosis Mycobacteria*, *Mycobacterium tuberculosis complex* dan *Mycobacterium tuberculosis*. Hasil deteksi menunjukkan bahwa pada pasien dengan kode sampel 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, dan 14 didapatkan pita DNA yang terbaca pada 506 bp yang menandakan bahwa terdapat DNA *Non Tuberculosis Mycobacteria* dari pasien tuberkulosis.

Analisis *Non Tuberculosis Mycobacteria* pada penelitian ini tidak dapat ditemukan secara jelas jenis dari *Non Tuberculosis Mycobacteria* yang menginfeksi suspek tuberkulosis tersebut akan tetapi terdapat bakteri *Non Tuberculosis*

*Mycobacteria* yang menjadi penyebab penyakit paru dan juga tuberkulosis. Bakteri *Non Tuberculosis Mycobacteria* yang dapat menginfeksi saluran pernafasan yaitu *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracelulare*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium szulgai*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Mycobacterium scrofulaceum*, *Mycobacterium abscessus* dan sebagainya. Bakteri *Non Tuberculosis Mycobacteria* yang sering kali menyebabkan penyakit paru kronis pada manusia yaitu *Mycobacterium avium complex* (MAC), *Mycobacterium kansasii* dan *Mycobacterium abscessus* (Sinha et al., 2016).

Meskipun hasil dari analisis *Non Tuberculosis Mycobacteria* pada penelitian ini tidak menemukan secara jelas jenis dari *Non Tuberculosis Mycobacteria*, akan tetapi dapat dilakukan pendugaan terhadap jenis *Non Tuberculosis Mycobacteria* yang menginfeksi pasien karena terdapat beberapa spesies dari bakteri *Non Tuberculosis Mycobacteria* yang sering menginfeksi manusia diantaranya adalah *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium ulcerans*, *Mycobacterium terrae*, dan *Mycobacterium fortuitum*. Hal ini sejalan dengan beberapa pendapat seperti Koirala (2020) yang menyatakan bahwa *Mycobacterium kansasii* merupakan infeksi paru kronis yang menyerupai tuberkulosis paru. Namun, infeksi ini juga dapat menginfeksi organ-organ lain. Infeksi *Mycobacterium kansasii* menjadi infeksi mikobakteri oportunistik *Non Tuberculosis Mycobacteria* yang paling umum kedua yang terkait dengan AIDS, hanya dilampaui oleh infeksi *Mycobacterium avium complex* (MAC).

Hasil dari *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang dilanjutkan dengan pembacaan visualisasi elektroforesis dari 15 sampel sputum suspek tuberkulosis juga menunjukkan

hasil deteksi lainnya yang mana ditemukan adanya pasien yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis complex* dengan kode sampel 4 didapatkan pita DNA yang terbaca pada 705 bp yang menandakan bahwa terdapat DNA *Mycobacterium tuberculosis complex* dari pasien tuberkulosis. Selain itu, juga di temukan hasil pasien yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan kode sampel 4 didapatkan pita DNA yang terbaca pada 396 bp yang menandakan bahwa terdapat DNA *Mycobacterium tuberculosis* dari pasien tuberkulosis.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa dari 15 sampel sputum suspek tuberkulosis, didapatkan 10 sampel positif yang teridentifikasi *Non Tuberculosis Mycobacteria* dan 1 sampel yang terdeteksi 3 jenis *Mycobacterium* yaitu *Non Tuberculosis Mycobacteria*, *Mycobacterium tuberculosis complex*, dan *Mycobacterium tuberculosis*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena atas kasih dan karunia-Nya, Penulis dapat menyelesaikan Penelitian ini. Saya ucapkan banyak terimah kasih kepada seluruh civitas universitas Mega rezky dan Civitas HUM-Rc atas semua dukungannya sehingga terselesaikannya penelitian ini sehingga Penelitian ini dapat terselesaikan. Semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu melimpahkan rahmat-Nya pada semua pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik dan berjalan tanpa ada hambatan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akihary, C. V., & Kolondam, B. J. (2020). Pemanfaatan gen 16s rRNA sebagai perangkat identifikasi bakteri untuk penelitian-penelitian di Indonesia. *Pharmakon*, 9(1), 16–22.
- Gopalswamy, R., Shanmugam, S., Mondal, R., & Subbian, S. (2020). Of tuberculosis

- and non-tuberculous mycobacterial infections—a comparative analysis of epidemiology, diagnosis and treatment. *Journal of Biomedical Science*, 27, 1–17.
- Porvaznik, I., Solovič, I., & Mokry, J. (2017). Non-tuberculous mycobacteria: classification, diagnostics, and therapy. *Respiratory Treatment and Prevention*, 19–25.
- Sitepu, R., F. Dwijayanti., C.D. Yoedistira. 2022. Kemunculan Gen *Mycobacterium tuberculosis* dari Sampel Darah Pasien Pengobatan Tuberkulosis Fase Konversi Menggunakan PCR yang Tidak Terdeteksi dengan Evaluasi Pewarnaan Bakteri di Puskesmas Janti, *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 11(1), 22-32.
- Muleta, A. J., R. Lappan., T. P. Stinear., C. Greening. 2021. Understanding the Transmission of *Mycobacterium ulcerans*: A Step Towards Controlling Buruli Ulcer, *PloS Neglected Tropical Diseases*, 15(8), 1-21.
- Ohara, N., Matsuo, K., Yamaguchi, R., Yamasaki, A., Tasaka, H., Yamada, T. Cloning And Sequencing Of The Gene For The Alpha Antigen From *Mycobacterium avium* and Mapping Of B Cell Epitopes, *Infect, Immun*, 61, 1173-1179.
- Sinha, P., Gupta, A., Prakash, P., Anupurba, S., Tripathi, R., Srivastava. 2016. Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex from non-tubercular mycobacteria by nested multiplex PCR targeting IS6110, MTO40, and 32kD alpha antigen encoding gene fragments. *BCM Infectious Diseases*, 16(123), 1-10