

RESPONS IMUN DAN PEMERIKSAAN SEROLOGI PADA TUBERKULOSIS

Diah Hermayanti*

Abstrak

Tuberculosis merupakan penyakit yang biasanya menyerang paru-paru. Inhalasi droplet yang mengandung sedikit bakteri Mycobacterium tuberculosis ditelan oleh makrofag alveolar. Makrofag merupakan sel target utama, namun kemudian setelah teraktifasi, akan membunuh bakteri ini dan berpartisipasi dalam respons protektif sel tipe-1 T helper dan respons Th2 untuk bakteri target ekstraseluler yang disebut imunitas humoral.

Pemeriksaan serologi diperlukan pada kasus dimana pemeriksaan penunjang rutin sulit untuk menegakkan diagnose tuberculosis. Pemeriksaan tersebut antara lain menggunakan reagen dari antigen seperti antigen 5 (antigen 38 Kd), antigen kompleks 85, Early secreted antigen target (ESAT-6), antigen culture filtrate protein (CFP)-10, antigen Malate Synthase (MS) dan MPT-51. Namun demikian tidak ada pemeriksaan imunologi tunggal yang mempunyai sensitivitas 100%, diperlukan kombinasi beberapa pemeriksaan untuk meningkatkan sensitivitasnya.

Kata kunci : tuberculosis, respons protektif, pemeriksaan serologi

Abstract

Tuberculosis is a disease that usually attacks the lungs. Inhalation of droplets containing the bacteria Mycobacterium tuberculosis slightly engulfed by alveolar macrophages. Macrophages are the primary target cell, but then once activated, will kill the bacteria and participate in the response of the cell protective T helper type-1 and Th2 responses to target extracellular bacteria called humoral immunity.

Serological examination is required in cases where investigations are difficult to enforce routine diagnosis of tuberculosis. The examinations were used such as an antigen reagent of antigen 5 (38 Kd antigen), complex 85 antigen, Early secreted antigen target (Esat-6), culture filtrate protein (CFP) -10 antigen, an Malate Synthase (MS) antigen and MPT-51. However, there is no single immunological examination has sensitivitas 100%, it takes a combination of several examinations to increase its sensitivity.

Key words : tuberculosis, protective response, serology examination

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (*tuberculosis*/ TBC) merupakan masalah kesehatan dunia yang sulit dikendalikan, terutama di negara-negara sedang berkembang. Sampai dengan tahun 2003, diperkirakan sepertiga dari populasi dunia terinfeksi oleh TBC dan menyebabkan kematian kurang lebih 2 juta pertahun (WHO, 2003). Kasus baru diperkirakan terjadi 8,5 juta pertahun dan 95% berada di negara-negara sedang berkembang di Asia (5 juta), di Afrika (2 juta), di Timur Tengah (0,6 juta), dan di Latin (0,4 juta) (Kasper, 2005).

Peningkatan jumlah kasus TBC di dunia merupakan akibat dari pandemic HIV, kurangnya pelayanan kesehatan masyarakat pada negara sedang berkembang, dan terputusnya pengiriman pelayanan

kesehatan di Eropa timur dan bekas Uni Soviet. The world health organization (WHO) memperkirakan satu billion orang akan terinfeksi baru dengan *Mycobacterium tuberculosis* (Dye et al, 1999). Diagnose TBC aktif masih relatif sulit di masa mendatang, dan diagnosa infeksi laten juga masih tetap sulit karena kurangnya pemeriksaan yang terpercaya dan sederhana untuk mendiagnosa infeksi TBC.

Pada dekade terakhir, pemeriksaan serologi untuk tuberkulosis tampak sangat berkembang. Pemeriksaan serologi yang sensitif diperlukan terutama pada kasus dimana hapusan sputum tidak membantu. Reagen-reagen yang baru, baik antigen murni dan antibodi monoklonal, memberikan pemeriksaan yang sensitif dan spesifik dari pada pemeriksaan kulit tuberkulin dan dipergunakan secara umum seperti pemeriksaan diagnostik darah.

* Staff Pengajar Pada Fakultas Kedokteran
Universitas Muhammadiyah Malang

Namun demikian tidak ada pemeriksaan tunggal yang mempunyai sensitivitas 100%, diperlukan penelitian ke depan untuk mengidentifikasi kombinasi antigen untuk serodiagnosis dari tuberculosis (Bothamley, 1995)

Respons Imun Pada Tuberkulosis

Tuberculosis merupakan penyakit yang biasanya menyerang paru-paru. Inhalasi droplet yang mengandung sedikit bakteri ditelan oleh makrofag alveolar. Makrofag menghancurkan pathogen dan mengangkutnya ke saluran kelenjar limfe. Selanjutnya terbentuk lesi granulomatous yang kecil berisi bakteri ini. Ini terjadi pada 90% dari semua yang terinfeksi. Granula ini tidak secara langsung menyebabkan penyakit. Resiko berkembangnya penyakit tetap ada, karena bakteri ini tidak dieradikasi. Pada orang dengan system imun yang kompromis, penyakit akan berkembang setelah infeksi primer. Sebagai contoh kasus adalah penderita *Human immunodeficiency virus* (HIV), di mana resiko berkembangnya penyakit tuberculosis meningkat tajam sesuai dengan derajat imunodefisiensi (Kaufmann S, 2002).

Saat awal infeksi, makrofag merupakan sel target utama, namun kemudian setelah teraktivasi, akan membunuh bakteri ini dan berpartisipasi dalam respons protektif sel tipe-1 T helper dan respons Th2 untuk bakteri target ekstraseluler yang disebut imunitas humoral (Marino, 2004).

Bakteri berada dalam lesi granulomatous, di mana populasi sel T yang berbeda ikut berpartisipasi dalam respons imun protektif. Berikut ini adalah populasi sel T yang terlibat : (1) Sel T CD4 mengenali peptide antigenik dalam kontekstualisasi produk gen yang dikode oleh *major histocompatibility complex* (MHC) klas II; (2) Sel T CD8 mengenali peptide antigenic dalam kontekstualisasi produk gen oleh *major histocompatibility complex* (MHC) klas I; (3) Sel T $\alpha\alpha$ mengenali ligan antigenic bebas yang tidak umum dari molekul presentasi khusus, terutama *phospholigand*; (4) Sel T terbatas CD1 mengenali glikolipid yang melimpah pada dinding sel mycobacterial yang dipresentasikan oleh molekul CD1 (Kaufmann, 2002)

Pada infeksi *Mycobacterial*, tipe sitokin Th-1 terlihat paling utama dalam imunitas protektif. Kedua sel CD4+ dan CD8+ melakukan pertahanan

melawan *M tuberculosis*, namun fungsi efektor sel T dapat tercapai hanya setelah priming dan diferensiasi. Sel mature dendritic melepas sitokin yang diinduksi oleh Th-1 yaitu interleukin (IL)-12 dan interferon (IFN)- γ dalam jumlah yang konsisten. Sebaliknya, makrofag yang terinfeksi memproduksi terutama sitokin proinflamasi yang menginduksi peradangan. Sitokin di lingkungan paru (GM-CSF, IL-10, IL-4) mungkin juga berperan dalam maturasi monosit (Marino, 2004).

Sitokin diproduksi oleh berbagai jenis sel yang terlibat baik pada system imunitas alamiah (*innate*) maupun adaptif. Sitokin secara langsung diproduksi oleh makrofag dan sel limfosit T, dan sumber lain IFN- γ dari sel limfosit T CD8+. Empat konsentrasi sitokin yaitu tipe I (IFN- γ dan IL-12), dan tipe II (anti tipe I) (IL-10 dan IL-4). IFN- γ gene knockout (KO) mice peka terhadap *M tuberculosis*, dan individu yang kekurangan reseptor untuk IFN- γ menderita infeksi rekuren, dan kadang-kadang infeksi yang lethal. Sitokin tipe Th2 menghambat produksi IFN- γ secara in vitro, seperti pada aktivasi makrofag, sehingga melemahkan pertahanan tubuh host. IFN- γ terutama diproduksi oleh sel Th1 sebelum dan setelah makrofag teraktivasi. Sumber tambahan lain dari sitokin ini adalah sel T CD8+. Sumber ini berkaitan dengan fungsi konsentrasi bacterial dan IL-12. Pada paru-paru IL-12 diproduksi terutama oleh makrofag teraktivasi dan residen. Efek utamanya adalah meningkatkan cell-mediated immunity secara langsung dengan meningkatkan diferensiasi precursor Th menjadi Th1, dan secara tidak langsung dengan memfasilitasi produksi IFN- γ . Sedangkan IL-10 bekerja sebagai sitokin down regulatory. Sitokin ini mempengaruhi makrofag dan limfosit dan selalu berlawanan dengan IFN- γ dan IL-10, dengan mekanisme feedback yang kompleks menekan cell-mediated immunity. Sel Th1 dan Th2 memproduksi IL-10 seperti pada precursor Th. Makrofag juga mensekresi sitokin ini, terutama M1 setelah terinfeksi oleh *M tuberculosis*. IL-4 merupakan sitokin tipe 2 utama yang mengatur diferensiasi prekursor Th2 menjadi sel Th2 dan regulasi turun diferensiasi prekursor Th menjadi Th1. Sitokin ini terutama diproduksi oleh precursor Th dan sel Th2. (Marino, 2004).

Beberapa Antigen Spesifik Untuk Diagnosa Tuberkulosis

a. Antigen 5 (Antigen 38 kDa)

Bothamley (1995), mengidentifikasi satu antigen (antigen 5, yaitu antigen 38kDa) dari serum pasien tuberculosis pulmonal yang hapusan sputumnya positif sebagai reagen skrining yang potensial untuk tuberculosis infeksius, dan lainnya (16 kDa antigen) untuk keperluan monitoring. Pemeriksaan *monoclonal antibody competition assay anti-38 kDa antibody* adalah yang paling sensitif sebagai pemeriksaan serologi untuk tuberculosis dengan hapusan negatif. Pemeriksaan untuk meningitis tuberculosis masih memerlukan evaluasi klinik. Pemeriksaan untuk tuberculosis terkait *human immunodeficiency virus* (HIV) tidak dianjurkan. Secara umum, kadar antibodi pada tuberculosis primer adalah rendah dan muncul secara langsung terhadap antigen sitoplasmik, sedangkan pada penyakit pos-primer kadar antibodi lebih tinggi dan tampak terikat pada antigen sekresi (Bothamley, 1995).

b. Antigen Kompleks 85

Protein antigen 85 (85A, 85B, dan 85 C) dari *M tuberculosis* adalah protein yang membantu integritas dari dinding sel bakteri dengan mengkatalisa transfer dari asam mikolik ke arabinogalaktan dinding sel, dan melalui sintesa *trehalose dimycolate (cord factor)*. Protein-protein sekresi ini menyebabkan invasi yang cepat pada makrofag alveolar melalui interaksi langsung antara system pertahanan tubuh dan basil penginfeksi. (Ramachandra et al, 2001).

c. Early secreted antigen target (ESAT-6)

Pemeriksaan *Tuberculin skin testing (TST)* dengan *purified protein derivative (PPD)* tidak spesifik untuk orang yang mendapat *vaksin Bacille Calmette Guerin (BCG)* (Diagnosis of MTB infection-using ESAT-6 & intracell cytokine =2). Salah satu solusi masalah ini adalah identifikasi dan purifikasi antigen spesifik MTB. *Early secreted antigen target (ESAT-6)* adalah antigen yang disekresi baik oleh MTB dan *wild-type* dari *M. bovis*, namun tidak dijumpai pada BCG. Investigasi respon imun terhadap antigen ini pada binatang ternak dapat membedakan binatang terinfeksi terhadap

binatang yang divaksinasi. Meskipun respon imun yang timbul hanya berkisar sepersepuluh dari PPD (dye), penelitian pada manusia tampaknya sama-sama memberikan peluang yang menjanjikan. Pengukuran terhadap respons-repons ini bergantung pada deteksi dari produksi interferon (IFN)- γ oleh *ESAT-6-specific CD4 T cells*. Pengeluaran (IFN)- γ dapat diukur dengan penilaian supernatan dari sel yang distimulasi atau dengan menggunakan metode *enzyme-linked immunospot (ELISPOT)*. Akhir-akhir ini mulai digunakan teknik intracellular cytokines staining (ICC) menggunakan multicolour immunofluorescent labeling dan flow cytometry untuk mengidentifikasi *ESAT-6-specific CD4 T cells* (Dye, 1999m).

d. Antigen Culture Filtrate Protein (CFP)-10

10-kDa culture filtrate protein (CFP-10) adalah antigen yang berperan dalam virulensi *M tuberculosis*. CFP-10 menyusun kompleks yang kuat dengan perbandingan 1 :1 dengan 6kDa early secreted antigen target (ESAT-6). Pada sel *mycobacterial*, kedua protein ini saling tergantung satu sama lain untuk kestabilannya. Kompleks ESAT-6/CFP-10 disekresikan oleh system sekresi ESX-1 untuk menindahkan factor virulens ke dalam makrofag inang dan monosit selama infeksi. Komponen utama dari system sekresi ESX-1 yang utuh pada *M tuberculosis* meliputi Rv3877, dan dua AAA ATPases meliputi Rv3870 and Rv3871 yang merupakan protein sitosolik. Kompleks heterodimer ESAT-6/CFP-10 ditargetkan untuk sekresi oleh sekuen sinyal C-terminal pada CFP-10 yang dikenali oleh protein sitosolik Rv3871. Rv3871 kemudian berinteraksi dengan CFP-10 C-terminal dan membawa kompleks ESAT-6/CFP-10 ke Rv3870 dan Rv3877, yaitu suatu protein multi transmembran yang membuat pori-pori yang membentang pada membrane sitosolik dari sel inang virulen. Setelah itu, pada membrane sel inang virulen, CFP-10 C-terminal melekat dan mengikat dirinya pada permukaan sel. Sekresi kompleks ESAT-6/CFP-10 dan perlekatannya pada sel inang virulen berperan pada patogenisitas *M tuberculosis* (Meher et al, 2006).

CFP adalah produk gen RD1 dimana region RD1 ini tidak dijumpai pada *M bovis bacille Calmette Guerin (BCG)* sehingga tidak

menyebabkan positif palsu pada hasil pemeriksaan pada orang yang telah divaksinasi. Kombinasi dengan antigen spesifik lainnya meningkatkan sensitivitasnya terhadap *M tuberculosis*. (Rao et al, 2009).

e. Antigen Malate Synthase (MS) dan MPT-51

Antigen MS atau GlcB dari *M tuberculosis* berperan dalam glyoxalate shunt dan merupakan factor virulensi. Glyoxalate bypass penting dalam survival dari *M tuberculosis* dalam kondisi oksigen rendah, status non-replikatif, dan lingkungan intraseluler (Kinhikar et al, 2006). Sedangkan protein MPT-51 adalah protein 27 kDa yang dikode oleh gen *fbpC1* yang 40% homolog dengan komponen kompleks Ag-85. Antigen ini adalah family baru α -hidrolase non katalitik, yang mempunyai kemampuan mengikat fibronectin (Wilson et al, 2004).

Kedua protein tersebut merupakan protein imunodominan *M tuberculosis*, dimana dilaporkan menyebabkan respon antibodi selama stadium awal dan lanjut dari TB pada pasien HIV⁻ dan HIV⁺. Hal ini penting karena pasien TB HIV⁺ tampaknya merespon antibodi terhadap repertoire yang lebih kecil dari *M tuberculosis* dari pada pasien TB HIV⁻. (Achkar, 2010).

Sensitivitas dan Spesifisitas Pemeriksaan Serologi

Beberapa peneliti telah melakukan studi tentang sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan serologi tuberculosis dengan hasil sebagai berikut :

1. Hughes AJ dkk pada tahun 2005 melaporkan bahwa pemeriksaan menggunakan antigen MTB spesifik ESAT 6 mempunyai nilai sensitivitas 100% dan spesifisitas 88%. Ini lebih baik dibandingkan dengan PPD dengan sensitivitas 100% namun spesifisitas 0%. (Hughes et al, 2005).
2. Hill PC dkk (2005) melaporkan studinya bahwa overlapping ESAT-6 dan CFP-10 meningkatkan spesifisitasnya dari pada tes kulit PPD bila digunakan *ex-vivo enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assay (ELLISPOT)* terhadap deteksi IFN- γ untuk mendiagnosa infeksi *M tuberculosis* yang baru. Kombinasi ini meningkatkan spesifisitasnya dibandingkan bila dipergunakan tunggal ($P=0,007$) (Hill, 2005).
3. Senol G dkk (2007) meneliti menggunakan kit komersial ELISA PATHOZYME-TB complex untuk mendeteksi immunoglobulin G menggunakan antigen rekombinan 38 kDa dan 16 kDa, mendapatkan hasil sensitivitas 52,5%, spesifisitas 93,3%, *positive predictive value* 95,9%, dan *negative predictive value* 39,7% (Senol et al, 2007).
4. Dayal dkk (2008), melakukan penelitian pada pasien anak penderita TB paru dan TB otak menggunakan antibody immunoglobulin G terhadap antigen kompleks 85 menggunakan tehnik ELISA dibandingkan dengan metode pengecatan Ziehl Niehlsen (ZN), kultur medium LJ, dan kultur medium BacT/Alert. Hasil penelitian menunjukkan sensitivitas/spesifisitas untuk ZN (16,9/100%), LJ (19,3/100%), BacT/Alert (24,1/100%), ELISA (Ag-85) (59,1/71,9%). Sanchez-Rodriguez dkk (2002) mendapatkan hasil pemeriksaan ini pada populasi dewasa dengan sensitivitas 72% dan spesifisitas 100% (Rodriguez, 2002).
5. Kochak HE dkk (th 2008) melakukan studi untuk menentukan sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan Ig G, Ig M, dan Ig A terhadap antigen 60 dengan menggunakan tehnik ELISA. Kadar rerata Ig G, Ig M, dan Ig A signifikan lebih tinggi pada penderita tuberculosis dibandingkan pada kelompok kontrol. Nilai sensitivitas untuk Ig G adalah 54,3% dan spesifisitas 84,2%; sensitivitas Ig A 70,1% dan spesifisitas 80%. Kombinasi Ig G dan Ig A mempunyai nilai sensitivitas total 45,7% , spesifisitas 94,7%, dan *positive likelihood ratio* 8,2. (Kochak et al, 2011).
6. Feng TT dkk (2011) melakukan studi untuk mengetahui potensial dari antibodi monoklonal (mAbs) dari (CFP-10) dan *early secretory antigenic target 6 (ESAT-6)* untuk mendiagnosa tuberculosis. Antibody monoklonal dan poliklonal terhadap ESAT-6 dan CFP-10 dibuat dengan mengimunitasi BALB/c mice dengan protein fusi ESAT-6/CFP-10. Kemudian didapatkan sel keturunan hibridoma yang stabil dan mAbs secara khusus diidentifikasi dengan imunoblotting dan imunopresipitasi. mAbs

tikus digunakan untuk melapisi *plate*, dan antibody poliklonal berlabel biotin digunakan untuk mendeteksi adanya antigen. Penelitian ini dilakukan pada 173 sampel dari supernatan kultur sputum dan aspirat *pleural effusion*. Sensitivitas dan spesifisitas ELISA untuk ESAT-6 sebesar 95,4% dan 100%; CFP-10 sebesar 81,6% dan 92,2%; sedangkan kombinasi ESAT-6 dan CFP-10 menunjukkan angka deteksi positif sebesar 86,8% dan 76,3% (Feng et al, 2011).

KESIMPULAN DAN SARAN

Pemeriksaan serologi untuk mendiagnosa tuberkulosis aktif dan laten diperlukan pada kasus-kasus dimana pemeriksaan rutin sederhana dan radiologi tidak membantu. Beberapa penelitian telah dikerjakan dengan menggunakan pemeriksaan imunologi untuk mendeteksi antibodi terhadap antigen tuberkulosa. Reagen-reagen yang dipergunakan menggunakan antigen murni ataupun antibodi monoklonal dari *M. tuberculosis*. Pemeriksaan-pemeriksaan tersebut antara lain menggunakan antigen 5 (antigen 38 Kd), antigen kompleks 85, *Early secreted antigen target* (ESAT-6), antigen *culture filtrate protein* (CFP)-10, antigen *Malate Synthase* (MS) dan MPT-51. Tidak ada pemeriksaan imunologi tunggal yang mempunyai sensitivitas 100%, diperlukan kombinasi beberapa pemeriksaan untuk meningkatkan sensitivitasnya. Namun demikian masih diperlukan studi lebih lanjut untuk mendapatkan pemeriksaan imunologi yang mempunyai sensitivitas dan spesifisitas tinggi dengan metode yang praktis dan cepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Achkar JM, Avital EJ, Yu X et al, 2010, *Antibodies against Immunodominant Antigens of Mycobacterium tuberculosis in Subjects with Suspected Tuberculosis in the United States Compared by HIV Status*, *Clinical and Vaccine Immunol*, 17 (3), 384-392, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2837951/>
- Bothamley GH, 1995, *Serological Diagnosis of Tuberculosis*, *Eur Respir J Supp*; 20 : 676-688, abstract, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8590568>
- Dye C, Scheel S, Dolin P, et al, 1999, *Consensus statement. Global burden of tuberculosis : estimated incidence, prevalence, and mortality by country*. WHO Global surveillance monitoring project, *JAMA*; 282, 677-86
- Feng TT, Shou CM, Shen L, et al, 2011, *Novel monoclonal antibodies to ESAT-6 and CFP-10 antigens for ELISA-based diagnosis of pleural tuberculosis*, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, Vol. 15, number 6, pp. 804-810 <http://www.ingentaconnect.com/content/iatld/ijtd/2011/00000015/00000006/art00018>
- Hill PC, Sillah DJ, Fox A, 2005, *ESAT-6/CFP-10 Fusion Protein and Peptide for Optimal Diagnosis of M tuberculosis Infection by Ex Vivo Enzyme-linked Immunospot Assay in Gambia*, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol.43.No.5, pp.2070-2074 http://dSPACE.unijos.edu.ng/bitstream/10485/1124/1/Lugos_publication13.pdf
- Hughes JA, Hutchinson P, Gooding T et al, 2005, *Diagnosis of Mycobacterium tuberculosis Infection Using ESAT-6 and Intracellular Cytokine Cytometry*, *British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology*, 142 : 132-139, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1809478/>
- Kasper et al, 2005, *Harrison's Principles of Internal Medicine* 16th ed, McGraw-Hill companies, USA
- Kaufmann S, 2002, *Protection Against Tuberculosis : Cytokines, T-Cells, and Macrophages*, *Ann Rheum Dis*; 61 (suppl 2):ii54, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1766701/>
- Kinhikar AGD, Vargas H, Li SB, et al, 2006, *Mycobacterium tuberculosis Malate Synthase is a Laminin-binding Adhesion*. *Mol. Microbiol* 60:999-1013
- Kochak HE, Alinaghi SA, Zarghom O, 2011, *Evaluation of Serological Test Using A60 Antigen for Diagnosis of Tuberculosis*, *Acta Medica Iranica*, Vol.48, No.1, pp.22-26, http://journals.tums.ac.ir/upload_files/pdf/15159.pdf
- Marino S, Kirschner DE, 2004, *The Human Immune Response*, *Journal of Theoretical Biology*, 227, 463-468, <http://malthus.micro.med.umich.edu/lab/pubs/simeone001.pdf>

- Meher AK, Bal NC, Chary KV, et al, 2006, *Mycobacterium tuberculosis H37Rv ESAT-6-CFP-10 complex formation confers thermodynamic and biochemical stability*. FEBS J. 273 (7): 1445–62. doi:10.1111/j.1742-4658.2006.05166.x. PMID 16689931.)
- Ramachandra L, Noss E, Boom WH, 2001, *Processing of Mycobacterium tuberculosis Antigen 85B Involves Intraphagosomal Formation of Peptide-Major Histocompatibility Complex II Complexes*, JEM, Vol 194, No. 10, 1421-1432, <http://jem.rupress.org/content/194/10/1421.abstract>
- Rao PVR, Murthy MK, Baseerudin S et al, 2009, *Improved diagnosis of tuberculosis in HIV-positive patients using RD1-encoded antigen CFP-10*, International Journal of Infectious Disease, Vol.13,613-622, http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B7CPT-4V8FFKM-2-1&_cdi=17975&_user=10&_pii=S1201971208016895&_origin=&_coverDate=09%2F30%2F2009&_sk=999869994&view=c&wchp=dGLzVlz-zSkWb&md5=6c7bb24bdbc30d812b7c56d5cc03ecf7&ie=/sdarticle.pdf)
- Rodriguez S, Chaves E, Virgil G et al, 2002, *An IgG Antibody Response to The Antigen 85 Complex is Associated with Good Outcome in Mexican Totonaca Indians with Pulmonary Tuberculosis*, Int. J. Tuberc. Lung. Dis; 6 :706-712
- Senol G, Erer OF, Yalcin YA et al, 2007, *Humoral immune response against 38-kDa and 16-kDa mycobacterial antigens in tuberculosis*, European Respiratory Journal, 29 : 143-148, <http://erj.ersjournals.com/content/29/1/143.full.pdf+html>
- Wilson RA, Maughan WN, Kremer L, et al, 2004, *The Structure of Mycobacterium tuberculosis MPT51 (FbpC1) Define a New Family of Non-Catalytic Alpha/Beta Hydrolases*. J.Mol.Biol,335:519-30, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283603013810>