

Perbandingan Metode Proporsi dengan Metode Resazurin Microtiter Assay (Rema) untuk Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* yang Resisten Terhadap Rifampisin

¹Yenti Purnamasari, ²Sartini, ²Faisal Attamimi, ³Muh. Nasrum Massi

¹Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo

²Teknologi Laboratorium Kesehatan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

³Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

Email: yenti.purnamasari@gmail.com

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is one of the high infectious diseases in Indonesia caused by Mycobacterium tuberculosis. Drugs which used for tuberculosis therapy has been widely reported experiencing resistance, while inappropriately treatment will lead to not effective and efficient care. Culture in Lowenstein Jensen medium is a gold standard to perform the drug susceptibility but it takes a long time to get results, therefore, new methods were developed to replace it, one of them is colorimetric method. This research aimed to compare Rifampicin susceptibility test in colorimetric method use REMA and culture method use Lowenstein Jensen medium. This study was a cross sectional with experimental laboratory design used 42 sputums from patients with tuberculosis, done at October 2010 until March 2011. In this research, 5 samples rifampicin resistant have been detected. As a results, we founded Rifampicin susceptibility test of REMA have 80 % sensitivity, 100 % specificity, 100 % PPV, and 97 % NPV when compared with culture method.

Keywords: *Proportion, Resazurin, Mycobacterium tuberculosis, Resistance*

PENDAHULUAN

Penyakit tuberkulosis (TB) adalah suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Indonesia menduduki peringkat ke 5 dari 22 negara-negara yang mempunyai beban tinggi untuk TB dan memberikan kontribusi jumlah kasus TB di dunia sebesar 4,7%. Pada tahun 2009, perkiraan insidensi TB semua tipe adalah 189 kasus per 100.000 penduduk per tahun dengan penemuan kasus TB baru dan kambuh adalah 127 per 100.000 penduduk per tahun dan angka prevalensi sebesar 285 per 100.000 penduduk per tahun. Angka kematian karena TB diperkirakan sebesar 27 per 100.000 penduduk per tahun dengan jumlah penduduk 230 juta, angka ini didukung dengan penemuan 660.000 total kasus; penemuan kasus baru semua tipe 430.000 dengan 169.213 kasus baru BTA-positif dan jumlah kematian 61.000 (Depkes RI, 2011; WHO, 2010).

Obat yang digunakan untuk TB adalah Isoniazid, Rifampisin, Etambutol,

Streptomisin, Pirazinamid, Sikloserin, Amikasin, Kapreomisin, dan Kanamisin, namun dalam proses pengobatan sering terjadi resistensi (Suyono, 2011). Pemberian obat untuk *Multi Drug Resistant Tuberculosis* (MDRTB) kepada kasus non MDRTB akan menghamburkan biaya, juga beresiko efek samping yang besar dan akan menurunnya angka kesembuhan, sebaliknya penggunaan parsial dari Obat Anti Tuberkulosis (OAT) untuk MDRTB juga akan meningkatkan resiko kemungkinan resiko timbulnya *Extensively Drug Resistant Tuberculosis* (XDRTB) (Sjahrurrahman, 2010).

Pemeriksaan mikrobiologik untuk uji kepekaan OAT yang sering digunakan adalah metode kultur pada medium Lowenstein-Jensen (LJ) sebagai media kultur bakteri dengan memasukkan konsentrasi obat yang telah dipersikan ke dalam medium sehingga biasa dikenal metode proporsi, dengan menggunakan metode ini hasil dapat diperoleh pada hari ke 28 dan jika hasil meragukan diulang

pada hari ke 42 (Palomino, 2002; Sjahrurrahman, 2010). Pemeriksaan mikrobiologik untuk konfirmasi MDRTB lainnya yang sedang dikembangkan beberapa tahun terakhir ini adalah metode kolorimetrik. Dasarnya adalah penggunaan indikator redoks untuk mendeteksi pertumbuhan *M. tuberculosis*. Salah satu metode kolorimetrik yang sedang dikembangkan adalah *Resazurin Microtiter Assay* (REMA). Hasil pengujian kerentanan OAT secara kolorimetri dapat memberikan hasil secara cepat yaitu pada hari ke 8 dan juga menggunakan biaya yang relatif lebih murah dengan pengerjaan yang lebih sederhana (Lemus et al, 2004; Palomino et al., 2002), namun karena REMA merupakan metode yang baru dikembangkan maka diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap metode REMA untuk mengetahui kemampuannya dalam memberikan informasi MDRTB dibandingkan *gold standart*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan metode proporsi dengan metode REMA dalam memberikan hasil uji kepekaan Rifampisin terhadap bakteri *M. tuberculosis*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan studi potong lintang dengan menggunakan metode eksperimental laboratorium. Pengumpulan sampel sputum penelitian ini dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Paru (BBLK) Makassar dan kemudian dilakukan pengujian di Laboratorium Imunologi dan Biomolekuler bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada bulan Oktober 2010 hingga Maret 2011. Jumlah sampel penelitian ini adalah sebanyak 42 sampel. Populasi penelitian ini adalah pasien TB yang berkunjung ke BBLK dan belum pernah mendapatkan pengobatan OAT sebelumnya dan dinyatakan positif dengan pemeriksaan *smear* BTA serta bersedia ikut penelitian ini dengan sebelumnya

telah menandatangani *informed consent* yang telah disetujui oleh komisi etik Universitas Hasanuddin.

Pemeriksaan Sampel Sputum Dekontaminasi

Sampel sputum yang mukopurulen terlebih dahulu di dekontaminasi dengan larutan dekontaminan dan *Phosfat Buffer Saline* (PBS). Larutan dekontaminan tersebut dibuat dari NaOH 4%, sodium sitrat 2,94%, aquadest steril dan NALC. Sebanyak \pm 2 mL sputum dimasukkan ke dalam tabung berukuran 50 mL kemudian ditambahkan larutan dekontaminan dengan perbandingan 1:1, pemindahannya dilakukan secara aseptis di dalam *Bio Safety Cabinet* (BSC) untuk menghindari kontaminasi. Tabung divortex selama 30 detik, setelah itu didiamkan 15 menit di dalam BSC, kemudian ditambahkan larutan PBS 0,067 M pH 6,8 sampai volumenya mencapai 50 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 xg selama 15 menit. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang dan kembali ditambahkan 1-2 mL larutan posfat buffer pH 6,8 ke dalam sedimen dan dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Hasil dekontaminasi kemudian sebagian diisolasi pada medium NA, jika terdapat pertumbuhan maka proses dekontaminasi diulangi kembali.

Pengecatan Basil Tahan Asam (BTA)

Sediaan smear dibuat dengan mengambil 100 μ L spesimen dan diletakkan pada permukaan objek glass dengan ukuran 2 x 3 cm dan tidak terlalu tipis lalu difiksasi hingga mengering. Selanjutnya dituangkan karbol fuchsin 1 % ke kaca objek dan dipanaskan di atas api sampai keluar asap, tetapi tidak sampai mendidih dan kering. Dibiarkan selama 5 menit, lalu dicuci dengan air mengalir sampai bebas zat warna. Kemudian dituangkan larutan alkohol asam 3 % dan dibiarkan selama 3 menit, lalu dicuci lagi dengan air mengalir perlahan hingga

bersih. Kemudian dituangkan metilen biru 3 %, dan dibiarkan hingga 30 detik dan setelah itu dibilas lagi dengan air mengalir, lalu dibiarkan sampai kering. Kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 x (10 x okuler dan 100 x objektif) dengan menggunakan minyak imersi untuk memudahkan dalam mengidentifikasi basil tahan asam.

Persiapan Inokulum untuk Uji OAT

Inokulum untuk uji obat harus distandarisasi terlebih dahulu untuk meratakan jumlah bakteri yang akan dikultur pada setiap medium dengan menggunakan konsentrasi 1 McFarland dan 0,5 McFarland. Konsentrasi McFarland dibuat dengan mencampurkan H_2SO_4 1 % sebanyak 9,9 mL dan $BaCl_2$ sebanyak 0,1 mL lalu ditambahkan 500 μ L inokulum. 0,5 Mcfarland dibuat dengan menambahkan medium middlebrook kedalam larutan McFarland konsentrasi 1,0. Persiapan inokulum dilakukan dengan memasukkan Medium Middlebrook 7H9 sebanyak 4 mL ke dalam tabung steril yang telah berisi 8-10 *glass bead* lalu ditambahkan koloni bakteri dari medium LJ (15 hari pertumbuhan) yang diambil dengan menggunakan ose terkalibrasi. Tutup rapat tabung, divortex 1-2 menit untuk memisahkan gumpalan koloni. Kekeruhan suspensi harus diukur sama dengan konsentrasi 1,0 McFarland. Lalu kembali didiamkan larutan/suspensi \pm 20 menit, pindahkan supernatan menggunakan pipet ke tabung steril baru, diamkan larutan/suspensi \pm 10 menit, kemudian pindahkan supernatan dengan pipet steril ke tabung steril yang lain. Kekeruhan suspensi harus diukur sama dengan konsentrasi 0,5 Mcfarland. Lalu dibuat pengenceran suspensi 1 : 10 dengan menambahkan 1 ml suspensi bakteri ke dalam 9 ml PBS/aquadest steril. Pengenceran inokulum siap untuk uji obat.

Uji Kepekaan Rifampisin Metode Proporsi menggunakan Medium Lowenstein Jensen

Rifampisin 0,01 g (10 mg) dilarutkan dalam 10 mL propilen glikol, ambil 4 mL lalu ditambahkan dengan 6 mL aquadest dan dimasukkan dalam medium Lowenstein-Jensen lalu dihomogenkan. Dibagi kedalam botol *MacCartney* sebanyak 5 mL lalu di masukkan dalam oven dipanaskan sampai suhu 85°C dan dikoagulasikan selama selama 2 x 45 menit, kemudian dikeluarkan didiamkan sampai suhu kamar. Inokulum bakteri dipipet 20 μ L dan dimasukkan kedalam medium, inkubasi selama 4 – 6 minggu pada suhu 37°C. Jika ditemukan koloni bakteri yang berwarna putih menyerupai kembang kol maka hasil dikatakan positif.

Uji Kepekaan Rifampisin Metode REMA

Medium middlebrook 7H9-S sebanyak 100 μ L dimasukkan kedalam setiap sumur pada *microtiter plate*. Dipipet 100 μ L spesimen kedalam *microtiter plate* yang telah disiapkan, tambahkan rifampisin yang telah diencerkan hingga diperoleh konsentrasi yang akan digunakan yaitu 1,25, 2,5, 5, 10, 20 dan 30 μ g/mL . Pada pengujian ini juga digunakan kontrol pertumbuhan bakteri yang hanya terdiri dari medium, bakteri dan akuadest steril tanpa diberikan antibiotik, kemudian plate ditutup dan inkubasi 37°C. Setelah 7 hari inkubasi, 30 μ L larutan resazurin ditambahkan ke setiap sumur dan kembali diinkubasi semalaman. Setelah hari ke 8, diamati apakah terjadi perubahan warna dari biru (proses oksidasi) menjadi merah muda (proses reduksi) yang mengindikasikan pertumbuhan bakteri.

HASIL

Telah dilakukan penelitian untuk membandingkan hasil uji kepekaan Rifampisin terhadap *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) menggunakan metode proporsi dengan metode REMA menggunakan sampel sputum penderita tuberculosis (TB) di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada bulan Oktober 2010 sampai dengan Maret 2011 dengan jumlah sampel sebanyak 42 sampel.

Pada metode proporsi sebanyak 5 sampel (11,9 %) sedangkan untuk metode REMA sebanyak 4 sampel (9,5 %). Hasil negatif pada metode proporsi sebanyak 37 sampel (88,1 %) dan untuk metode kolorimetri REMA sebanyak 38 sampel (90,5 %) (Tabel 1).

Tabel 1. Perbandingan hasil uji kepekaan Rifampisin metode proporsi terhadap metode kolorimetri REMA

REMA	PROPORSI		Total n (%)
	Resisten n (%)	Sensitif n (%)	
Resisten	4 (9,5)	0 (0)	4 (9,5)
Sensitif	1 (2,4)	37 (88,1)	38 (90,5)
Total	5 (11,9)	37 (88,1)	42 (100)

Tabel 2. Perbandingan hasil positif pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada metode proporsi dengan metode kolorimetri REMA

Kode Sampel	Hari Pertumbuhan			
	Hari	Proporsi	Hari	REMA
B16	28	+	8	+
B32	35	+	8	+
B35	7	+	8	+
B60	42	+	8	+
Total	112		32	
Rerata	28		8	

Dari **Tabel 2**, didapatkan hasil uji kepekaan Rifampisin untuk pertumbuhan *M. tuberculosis* pada metode proporsi dapat diamati pada rata – rata hari ke 28 sedangkan pada metode REMA dapat diamati pada hari ke 8.

PEMBAHASAN

Ada beberapa metode pengujian digunakan untuk mendapatkan hasil uji kepekaan obat anti tuberculosis (OAT), metode yang paling sering digunakan saat ini adalah metode proporsi berupa pengujian dengan melakukan kultur pada medium Lowenstein Jensen (LJ) yang diberikan OAT dalam konsentrasi telah terproporsi. Dalam prosesnya, metode ini membutuhkan waktu yang lama yaitu 4 – 6 minggu untuk mendapatkan hasil (Sjahrurrahman, 2010), selain itu dapat juga menggunakan metode yang lain diantaranya BACTEC dan *Mycobacterial Growth Indicator Tube* (MGIT), tetapi metode ini membutuhkan peralatan yang mahal. Metode REMA merupakan salah satu metode yang baru dikembangkan dimana dapat memberikan hasil uji sensitivitas OAT yang cepat dan tepat dengan biaya yang relatif lebih murah dengan pengerjaan yang lebih sederhana.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) dengan membandingkan hasilnya terhadap metode proporsi yang merupakan *gold standart* untuk pemeriksaan uji sensitivitas OAT terhadap *M.tuberculosis* saat ini.

Dalam penelitian ini digunakan sampel sputum penderita yang memiliki gejala klinis TB dan dipertegas dengan hasil pengecatan BTA positif. Pasien yang diikutsertakan dalam penelitian ini adalah penderita TB yang belum pernah menggunakan OAT sebelumnya dengan kata lain pasien baru agar didapatkan hasil yang benar-benar menggambarkan uji sensitivitas rifampisin baik positif maupun negatif.

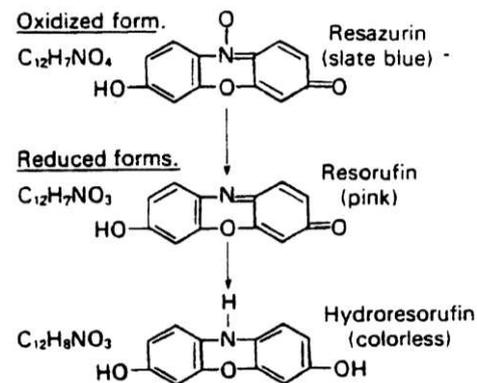
Pada metode proporsi jika pertumbuhan *M. tuberculosis* belum tampak pada hari ke 28 maka pengamatan terus dilakukan hingga hari ke 42. Media Lowenstein Jensen ini mengandung garam tertentu, glycerol, substansi organik kompleks (yaitu telur segar, tepung kentang dan bahan-bahan lain dengan komposisi yang bervariasi), yang mana kandungan ini sangat dibutuhkan oleh *M. tuberculosis* untuk tumbuh. Selain itu terdapat Malachite green yang dimasukkan untuk menghambat bakteri lain (Todar, 2005).

Dibutuhkan waktu yang lama untuk mendapatkan koloni *M. tuberculosis* hingga hari ke 42 karena pada dinding selnya mengandung komponen mycolid acid dan glycolipid yang berfungsi menghalangi masuknya zat kimia sehingga menyebabkan pertumbuhan yang sangat lambat. *M. tuberculosis* tumbuh lebih lambat, dengan pembelahan sel 15-24 jam tergantung pada kondisi pertumbuhan, dibandingkan dengan bakteri lainnya yang hanya membutuhkan waktu dalam 20 menit (Sujudi, 1994).

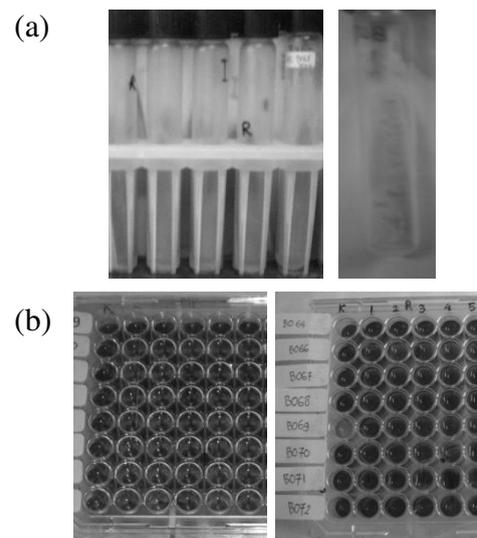
Pada metode REMA, pembacaan hasil dilakukan dengan melihat warna yang terbentuk, jika pada hari ke 8 tidak ada perubahan warna pada medium yang telah diberikan indikator resazurin maka hasil dinyatakan negatif. Metode ini menggunakan medium cair middlebrook 7H9 dan pengamatannya menggunakan indikator redoks yaitu resazurin untuk mendeteksi pertumbuhan *M. tuberculosis*. Bakteri dalam medium akan menggunakan oksigen dalam senyawa resazurin sehingga akan terjadi perubahan warna indikator dari biru menjadi merah muda (**Gambar 1**) ("European Patent Spesification," 1996; Farida et al, 2006; Sjahrurrahman, 2010).

Metode proporsi memiliki nilai sensitivitas, spesifisitas, Nilai Prediksi Positif (NPP), dan Nilai Prediksi Negatif (NPN) 100 % karena merupakan *gold standart* pemeriksaan kepekaan OAT yang masih digunakan hingga saat ini.

Selanjutnya nilai ini digunakan sebagai pembandingan untuk menghitung nilai sensitivitas, spesifisitas, NPP, dan NPN metode REMA.



Gambar 1. Reaksi redoks yang terjadi di dalam REMA akibat pertumbuhan bakteri di dalam medium ("European Patent Spesification," 1996).



Gambar 2. Uji kepekaan rifampisin sebelum dan sesudah penanaman bakteri *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan metode proporsi (a) dan metode REMA (b)

Berdasarkan perhitungan terhadap hasil penelitian ini, didapatkan hasil: metode REMA memiliki sensitivitas 80%, spesifisitas 100 %, NPP 100 % dan NPN 97 % terhadap metode proporsi.

Sensitivitas berarti seberapa baik suatu tes mendeteksi penyakit tanpa melewatkan beberapa individu berpenyakit yang salah klasifikasi sebagai individu sehat, sedangkan spesifisitas berarti seberapa baik suatu tes dalam mendeteksi hanya individu yang berpenyakit dibanding salah mengelompokkan beberapa orang sehat sebagai individu berpenyakit (Sacher, 2004).

Metode REMA memiliki sensitivitas 80 % berarti metode ini dapat tepat mendeteksi *M. tuberculosis* yang resisten terhadap Rifampisin dalam sebuah sampel penderita TB hingga 80 %, sedangkan spesifisitas 100 % berarti metode REMA mampu mendeteksi *M. tuberculosis* yang tidak resisten (sensitif) terhadap Rifampisin pada sampel bukan penderita TB hingga 100 %.

Nilai Prediksi Positif (NPP) menunjukkan besar kemungkinan individu berpenyakit tersebut, sedangkan Nilai Prediksi negatif (NPN) mencerminkan kemungkinan individu bebas dari penyakit tersebut (RA Sacher, 2004). Metode kolorimetri REMA memiliki NPP 100 % berarti *M. tuberculosis* pada sampel yang diperiksa memiliki kemungkinan 100 % resisten terhadap Rifampisin bila hasil ujinya positif sedangkan NPN 97 % berarti *M. tuberculosis* pada sampel yang diperiksa memiliki kemungkinan 97 % tidak resisten (sensitif) terhadap Rifampisin bila hasilnya negatif. Hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian-penelitian yang dilakukan sebelumnya diberbagai negara yang mengatakan bahwa REMA memiliki sensitivitas dan spesifisitas hingga rata-rata diatas 90 % dalam memberikan gambaran hasil uji kepekaan Rifampisin (Affolabi et al., 2008; Nathece et al, 2006; Palomino, 2002; Palomino et al., 2002).

Pada setiap metode ini, juga diberikan antibiotik Rifampisin untuk menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* sehingga jika masih didapatkan pertumbuhan bakteri pada kedua metode

yang digunakan maka dinyatakan bahwa *M. tuberculosis* pada sampel tersebut resisten atau tahan terhadap Rifampisin. Metode REMA memiliki perbandingan yang baik terhadap hasil metode proporsi, bila di metode proporsi hasilnya negatif maka di metode REMA juga akan memberikan hasil negatif dan bila hasilnya positif pada metode proporsi maka juga akan memberikan hasil positif di metode REMA. Metode REMA dapat memberikan gambaran hasil kepekaan Rifampisin dalam waktu pengerjaan yang singkat dan juga biaya yang relatif lebih murah.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan pada penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa metode REMA memiliki nilai sensitivitas, spesifisitas, Nilai Prediksi Positif (NPP), dan Nilai Prediksi Negatif (NPN) yang baik dalam memberikan hasil kepekaan Rifampisin. Hasil uji kepekaan Rifampisin terhadap *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan metode REMA memiliki nilai spesifisitas dan NPP 100 %, serta nilai sensitivitas dan NPN dibawah 100 %.

SARAN

Metode kolorimetri menggunakan REMA dapat direkomendasikan sebagai metode alternatif untuk uji kepekaan Rifampisin karena pengerjaannya yang lebih efektif dan efisien, serta perlu dilakukan penelitian lanjutan melihat *Minimal Inhibition Concentration* (MIC) OAT lini pertama penyakit TB menggunakan metode kolorimetri agar penderita TB dapat diberikan konsentrasi obat yang tepat untuk pengobatannya.

DAFTAR PUSTAKA

Affolabi, D., Sanoussi, N., Odoun, M., Martin, A., Koukpedji, L., Palomino, J. C., ... Portaels, F. 2008. Rapid detection of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Cotonou (Benin) using two low-cost

- colorimetric methods: Resazurin and nitrate reductase assays. *Journal of Medical Microbiology*, 57, 1024–1027.
doi:10.1099/jmm.0.2008/000406-0
- Depkes RI. 2011. Rencana Aksi Nasional: Programmatic Management of Drug Resistance Tuberculosis Pengendalian Tuberculosis Indonesia: 2011-2014. In *Stop TB*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan.
- European Patent Specification. 1996, (19), 1–19.
- Farida Nathece, Anandi Martin, Saliha Baraka, Juan Carlos Palomino, Safia Khaled, F. P. 2006. Application of the Resazurin Microtiter Assay for Detection of Multidrug Resistance in Mycobacterium tuberculosis in Algiers. *Journal Medical Microbiol*, 55 No.7(10.1099/jmm.0.46513-0), 857–860.
- Lemus, A Martin, E Mantoro, F Portal, J. P. 2004. Rapid Alternative Methods for Detection of Rifampicin Resistance in Mycobacterium tuberculosis, 4, 130–133.
- Mcfarland Standards. 2012, 78665.
- Palomino, S. L. & V. R. 2002. Tuberculosis 2007 From Basic Science to Patient Care. In *Drug Resistance and Drug Resistance Detection*. Belgium.
- Palomino, J., Martin, A., Camacho, M., Guerra, H., Swings, J., & Portaels, F. 2002. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrobail Agents and Chemotherapy*, 46(8), 2720–2722. doi:10.1128/AAC.46.8.2720
- RA Sacher, R. M. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium* (11th ed., pp. 3–5). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Sjahrurrahman, A. 2010. Multi Drug Resistant Mycobacterium. In *Tuberculosis*. Jakarta: Department FKUI.
- Sujudi, H. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi* (Revisi, p. 200). Jakarta.
- Sutton, S. 2011. Determination of Inoculum for Microbiological Testing, 15(3), 49–53.
- Suyono, S. 2001. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam* (2nd ed.). Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Todar, K. 2005. Tuberculosis. Retrieved from <http://www.bact.wisc.edu/themicrobiaworld/homepage.html-11k->
- WHO. 2010. *WHO, Multidrug and Extensively Drug-Resistant TB (M/XDR-TB): 2010 Global Report on Surveillance and Response*. Geneva: WHO.

