

LITERATUR REVIEW: GAMBARAN PEMERIKSAAN KULTUR DARAH DAN POLYMERASE CHAIN REACTION REACTION PADA PASIEN DEMAM TIFOID

Nurmi Hasbi^{1*}

Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram

*nurmahasbi@unram.ac.id

ABSTRAK

Demam tifoid merupakan salah satu masalah kesehatan di dunia yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Jalur penularan penyakit ini melalui *oral-feses*. Menurut WHO diperkirakan bahwa setiap tahun diseluruh dunia terdapat 10 hingga 21 juta kasus demam tifoid, sedangkan di Indonesia pada tahun 2010 hingga 2019, angka kejadiannya diperkirakan tiap tahunnya sekitar 500 per 100.000 penduduk. Ketidakmampuan untuk membuat diagnosis laboratorium yang dini sering menyebabkan peningkatan morbiditas dan mortalitas pada kasus demam tifoid. Teknik pemeriksaan kultur *S. typhi* merupakan metode gold standar untuk konfirmasi diagnosis demam tifoid. *Polymerase Chain Reacton* (PCR) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro*. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA bakteri patogen dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas pemeriksaan demam tifoid antara teknik kultur dan PCR. Penelitian ini menggunakan metode *literature review* yang dilakukan dengan mengumpulkan data pustaka berdasarkan kata kunci yaitu demam tifoid, kultur darah, dan PCR. Penelusuran artikel melalui *database google scholar* dan *Pubmed*. Hasil analisis *literature review* dengan uji statistic sensitivitas yaitu 0,001 ($p < 0,05$) dan uji spesifitas yaitu sebesar 0.095 ($p > 0.05$). Terdapat perbedaan yang signifikan dari segi sensitivitas dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari segi spesifitas hasil pemeriksaan kultur darah dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Kata kunci: demam tifoid, pemeriksaan kultur darah, *Polymerase chain reaction*, *Salmonella typhi*

ABSTRACT

Typhoid fever is a health problem in the world caused by the bacterium *Salmonella typhi*. The route of transmission of this disease is through oral-faeces. According to WHO it is estimated that every year around the world there are 10 to 21 million cases of typhoid fever. whereas in Indonesia in 2010-2019, the incidence rate is estimated to be around 500 per 100,000 population each year. The inability to make an early laboratory diagnosis often leads to increased morbidity and mortality in cases of typhoid fever. The *S. typhi* culture examination technique is the gold standard method for confirming the diagnosis of typhoid fever. *Polymerase Chain Reacton* (PCR) is an *in vitro* DNA synthesis and amplification technique. PCR technique can be used to amplify DNA segments of pathogenic bacteria millions of times in just a few hours. This study aims to determine the effectiveness of fever examination between culture and PCR techniques. This study used the literature review method which was carried out by collecting library data based on keywords, namely typhoid fever, culture, and PCR. Searching for articles through the Google Scholar and Pubmed databases. The results of the analysis of the literature review with a sensitivity statistical test were 0.001 ($p < 0.05$) and the spesificity test was 0.095 ($p > 0.05$). There is a significant difference in terms of sensitivity and no significant difference in terms of specificity of blood culture and polymerase chain reaction (PCR) results

Keywords: *blood culture examination*, *polymerase chain reaction*, *typhoid fever*, *Salmonella typhi*

PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Infeksi ditularkan melalui air atau makanan yang terkontaminasi kotoran manusia. *S. typhi* hanya dapat hidup pada manusia, bakteri tersebut akan beredar dalam aliran darah dan saluran usus. Bakteri *S. typhi* juga dapat menyebar melalui kontak langsung dengan orang yang telah terinfeksi seperti penyajian makanan oleh orang yang sedang mengalami demam tifoid (Crump *et al.*, 2015). Menurut WHO (2018) diperkirakan bahwa setiap tahun di seluruh dunia terdapat 10 hingga 21 juta kasus demam tifoid. Sedangkan di Indonesia pada tahun 2010 hingga tahun 2019, angka kejadiannya diperkirakan tiap tahunnya sekitar 500 per 100.000 penduduk (WHO, 2018).

Demam tifoid merupakan 10 besar penyakit terbanyak pada pasien rawat inap pada beberapa rumah sakit di Indonesia. Demam tifoid menduduki peringkat 3 dari 10 besar penyakit di rumah sakit dengan jumlah 5.798 kasus, sedangkan pada tahun 2013 menduduki peringkat 1 dari 10 besar penyakit di rumah sakit dengan jumlah 9357 kasus, dan pada tahun 2014 menduduki peringkat 1 dari 10 besar penyakit di rumah sakit dengan jumlah 9.721 kasus, selanjutnya pada tahun 2015 demam tifoid tetap menduduki peringkat 1 dari 10 besar penyakit dengan jumlah 9748 kasus.

Risiko infeksi demam tifoid yang tinggi terjadi pada daerah yang sanitasinya buruk dan kurang akses air bersih seperti pada negara yang berpenghasilan rendah ataupun menengah. Sedangkan pada negara yang berpenghasilan tinggi biasanya berasal dari warganya yang pulang berpergian dari daerah endemis tifoid di daerah endemic. Pasien yang dirawat di rumah sakit biasanya adalah anak usia sekolah atau dewasa dengan rentang antara usia 5 hingga 25 tahun (Wain *et al.*, 2015).

Demam tifoid merupakan jenis penyakit demam akut yang mengancam jiwa, jika tidak diobati secara cepat dan tepat. Kasus demam tifoid yang tanpa perawatan dapat bahan dalam spesimen yang bisa menghambat proses PCR seperti hemoglobin dan heparin

menyebabkan kematian 10 hingga 30%. Gejala umum dari penyakit ini yaitu demam yang berkelanjutan, menggigil dan perut terasa sakit (WHO, 2018). Gejala-gejala ini sangat umum, sehingga penegakan diagnosis menjadi cukup sulit untuk dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan pemeriksaan laboratorium yang dapat menunjang diagnosis penyakit ini. Pemeriksaan laboratorium untuk menegakkan diagnosis demam tifoid antara lain pemeriksaan tes widal, pemeriksaan kultur dan PCR.

Pemeriksaan kultur merupakan pemeriksaan baku standar dalam deteksi demam tifoid. Spesimen yang dapat dijadikan dalam pemeriksaan kultur diantaranya darah, feses, dan sumsum tulang belakang. Spesimen darah yang dikulturkan memiliki sensitivitas dan spesifitas yang baik hingga 80%. Kultur spesimen feses juga dapat mendeteksi keberadaan *S. typhi*, hal ini dikarenakan sebanyak 30% pasien demam tifoid positif dapat mensekresikan bakteri tersebut di fesesnya hingga 3 bulan setelah fase penyembuhan. Kultur spesimen sumsum tulang belakang juga memberikan hasil yang baik pada diagnosa kuantitatif, namun jarang digunakan dikarenakan kesulitan pengambilan sampel sumsum tulang belakang tersebut (Crump *et al.*, 2015). Pemeriksaan kultur memiliki beberapa kekurangan diantaranya yaitu waktu pemeriksaan yang lama sekitar 5-7 hari dan membutuhkan peralatan yang canggih untuk identifikasi, sehingga cara ini menjadi tidak praktis serta tepat untuk dibagai sebagai metode diagnosis baku dalam pelayanan demam tifoid.

Uji *Polimerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknik molekuler untuk mendeteksi DNA (asam nukleat) gen flagellin bakteri *S. typhi* dalam darah dengan teknik hibridisasi asam nukleat atau amplifikasi DNA dengan cara polymerase chain reaction (PCR) melalui identifikasi antigen yang spesifik untuk *S. typhi*. (Aliviameita *et al.*, 2019). Kekurangan dalam menggunakan metode PCR ini meliputi risiko kontaminasi yang menyebabkan hasil positif palsu yang terjadi bila prosedur teknis tidak dilakukan secara cermat, adanya bahan dalam spesimen darah serta bilirubin dan garam empedu dalam spesimen feses, biaya

yang cukup tinggi dan teknis yang relatif rumit. Usaha untuk melacak DNA dari spesimen klinis masih belum memberikan hasil yang memuaskan sehingga saat ini penggunaannya masih terbatas dalam laboratorium penelitian (Mawazo, Bwire and Matee, 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh (Darton *et al.*, 2017) mengatakan tidak ada perbedaan yang signifikan antara pemeriksaan PCR dan kultur. Namun hasil ini berbeda dengan yang dikatakan oleh (Gunawan *et al.*, 2018) yaitu pemeriksaan PCR lebih bagus dalam mendeteksi tifoid dibandingkan pemeriksaan kultur. Berdasarkan hasil penelitian peneliti terdahulu, maka penting untuk dilakukan penelitian secara *literature review* untuk membandingkan sensitivitas dan spesifitas pemeriksaan kultur dan PCR dengan judul penelitian “*Literatur Review: Gambaran Pemeriksaan Kultur Darah Dan Polymerase Chain Reaction Pada Pasien Demam Tifoid*”.

METODE

Metode penelitian yang digunakan berupa studi literatur dari jurnal nasional dan internasional. Dengan metode ini dapat meringkas kondisi pemahaman terkini tentang topik terkait. Studi literatur mengangkat materi yang telah disajikan sebelumnya dan meringkas materi menjadi publikasi relevan, kemudian hasil dibandingkan dan disajikan dalam bentuk artikel. Pertanyaan penelitian disusun berdasarkan framework Population Intervention, Comparison, Outcome (PICO) yang dilihat pada Tabel 1 dan sumber kata kunci Tabel 2.

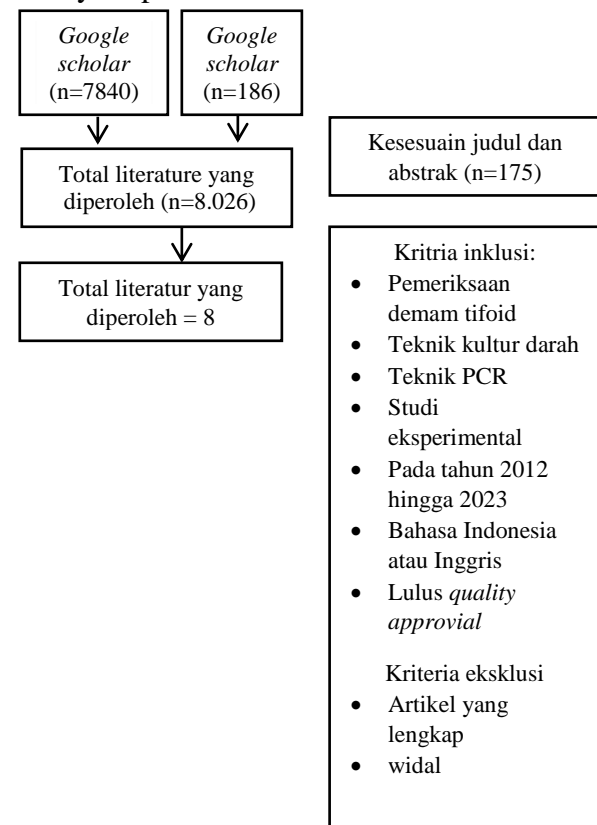
Tabel 1. Kerangka Berpikir, *Population, Intervention, Outcome* (PICO)

Kriteria	Cakupan
<i>Population</i>	Tifoid
<i>Intervention</i>	Teknik kultur darah
<i>Comparison</i>	Teknik PCR
<i>Outcome</i>	Pemeriksaan tifoid

Tabel 2. Kata Kunci Pencarian Literatur

Pencarian Literatur	Kata kunci
Pubmed	<i>Culture examination</i>
Google Scholar	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
	<i>Typoid fever/ demam tifoid</i>
	<i>Salmonella typhi</i>

Penapisan data dilakukan berdasarkan judul, abstrak dan kata kunci. Data lengkap yaitu data yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Algoritma penentuan literatur yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 1 kriteria inklusi berupa literatur yang menjelaskan terkait parameter pemeriksaan demam tifoid yang dipilih secara kultur, pemeriksaan *Polymerase chain reaction*, studi eksperimental, berbahasa inggris atau berbahasa Indonesia dan dipublikasikan dari tahun 2012 hingga 2023. Kriteria eksklusi berupa literatur yang tidak dapat diakses secara penuh, literature berjenis artikel review, dan pemeriksaan tifoid dengan cara lainnya seperti widal.



Gambar 1. Algoritma pengumpulan literatur

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengolahan sensitivitas dan spesifitas dari kedua jenis pemeriksaan yaitu kultur darah dan PCR menggunakan uji *Paired Sample t Test*. Tujuan dari pengujian ini untuk melihat perbedaan rata-rata antara pemeriksaan yang saling berhubungan serta melihat nilai *Sig. (2 tailed)* yang menunjukkan nilai *P Value*. Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa apabila nilai *P Value* < 0.05, maka nilai tersebut dinyatakan terdapat perbedaan secara nyata (signifikan). Berikut hasil uji *Paired Sample T* pemeriksaan metode kultur dan PCR pada pasien demam tifoid yang ditunjukkan pada

Tabel 3 dan hasil Uji *Paired Sample T Test* spesifitas pemeriksaan metode kultur darah dan PCR pada Tabel 4. Pada tabel 1 untuk sensitivitas didapatkan nilai *Sig. (2 tailed)* yaitu sebesar 0.001. Hasil ini menunjukkan terdapat perbedaan sensitivitas secara signifikan pada pemeriksaan menggunakan kultur darah dan pemeriksaan menggunakan PCR. Sedangkan pada Tabel 2 pemeriksaan spesifitas didapatkan nilai 0.095. Kondisi ini memperlihatkan tidak ada perbedaan spesifitas antara pemeriksaan kultur darah dan pemeriksaan menggunakan PCR.

Tabel 3. Hasil Uji *Paired Sample T Test* sensitivitas pemeriksaan metode kultur darah dan *Polymerase Chain Reaction*

No	Peneliti (Tahun)	Sensitivitas		Sig 2 (tailed)	P Value
		Kultur	PCR		
1	Abdul & Hafidh, 2014	53.45%	86.8%	0.001	<0.005
2	Tennant <i>et al.</i> , 2015	28.57%	40%		
3	Das <i>et al.</i> , 2016	29.6%	91.4%		
4	Pouzol <i>et al.</i> , 2019	73%	92.9%		
5	Badri <i>et al.</i> , 2019	37%	77.80%		

Tabel 4. Hasil Uji *Paired Sample T Test* spesifitas pemeriksaan metode kultur dan *Polymerase Chain Reaction*

No	Peneliti (Tahun)	Spesifitas		Sig 2 (tailed)	P Value
		Kultur	PCR		
1	Abdul & Hafidh, 2014	100%	100%	0.095	>0.005
2	Tennant <i>et al.</i> , 2015	91.45%	94.69%		
3	Das <i>et al.</i> , 2016	100%	100%		
4	Pouzol <i>et al.</i> , 2019	90%	92.3%		
5	Badri <i>et al.</i> , 2019	97.20%	1000%		

Perhitungan nilai sensitivitas bertujuan untuk mengetahui keefektifan suatu pemeriksaan dalam menyatakan hasil positif pada orang yang sakit. Semakin tinggi hasil sensitivitas maka akan semakin bagus pemeriksaan dan semakin sedikit hasil yang negatif ataupun positif palsu. Berdasarkan hasil studi literatur dari enam artikel didapatkan hasil lebih tinggi sensitivitas pada pemeriksaan PCR dibandingkan pemeriksaan kultur.

Pemeriksaan kultur darah merupakan pemeriksaan yang direkomendasikan oleh

IDAI (Ikatan Dokter Anak Indonesia, 2016), tetapi dilaporkan positif hanya pada 40-80% kasus. Sensitivitas kultur darah bervariasi menurut stadium penyakit, volume darah yang diinokulasikan ke dalam biakan dan pengobatan antimikroba sebelum diambil darahnya. Jumlah bakteri yang sedikit beredar dalam darah juga merupakan batasan penting kurang sensitivitas metode ini dibandingkan metode lainnya.

Hal yang perlu diperhatikan dalam mengisolasi kuman *S. thypi* pada kultur darah adalah waktu pengambilan bahan untuk dilakukan pemeriksaan, jenis media yang

digunakan, jumlah volume darah maupun cara inkubasi yang benar serta cara pengambilan darah harus seaseptik mungkin. Pengambilan spesimen sebaiknya dilakukan pada minggu pertama timbulnya penyakit, karena kemungkinan untuk positif mencapai 80 – 90%, khususnya pada pasien yang belum mendapat terapi antibiotik. Pada minggu ke -3 kemungkinan untuk positif menjadi 20 – 25% dan minggu 4 hanya 10 – 15%. Menurut IDAI (2016) pemeriksaan kultur darah dijadikan diagnosis pada demam minggu pertama. Sedangkan pada minggu kedua dan ketiga spesimen sebaiknya diambil dari kultur tinja. Hasil ini sesuai dengan studi literature mengatakan bahwasanya pasien yang datang berobat kerumah sakit telah lebih dari 1 minggu demam, kemungkinan telah melewati minggu pertama setelah terinfeksi, sehingga pemeriksaan kultur darah menjadi kurang sensitive dalam mendeteksi keberadaan bakteri *S. typhi*.

Untuk mengevaluasi akurasi kultur darah menjadi tes rujukan yang paling umum digunakan karena spesifisitasnya yang sempurna, tetapi memiliki sensitivitas rendah yang tidak dapat diterima untuk banyak populasi. Mengisolasi lebih banyak darah dapat meningkatkan sensitivitas tes, karena satu pengaturan menunjukkan sensitivitas 87.5% saat menggunakan kultur darah otomatis dengan 10 ml darah. Studi lain di antara anak-anak yang berusia lebih dari 60 hari mengamati bahwa proporsi kultur darah positif meningkat dengan setiap ml kultur darah. Meskipun pembiakan 10 ml darah dapat meningkatkan akurasi diagnostik biakan darah, ini mungkin bukan volume yang layak untuk diperoleh dari pasien, terutama anak-anak, yang paling terkena dampak penyakit ini (Darton *et al.*, 2017).

Tennant *et al.*, 2015 melakukan penelitian dengan judul “*Detection of Typhoidal and Paratyphoidal Salmonella in Blood by Real-time Polymerase Chain Reaction*”. Penelitian dilakukan di Karachi, Pakistan terhadap 136 anak (rentang usia 5-18 tahun) yang mengalami demam ($>38^{\circ}\text{C}$) selama 3 hari. Pemeriksaan kultur darah menunjukkan sebanyak 20 anak yang positif

demam tifoid dengan rincian 14 terinfeksi Pemeriksaan bakteri *S. typhi* dan 6 terinfeksi *S. paratyphi*. dikonfirmasi menggunakan PCR didapatkan hasil sebanyak 8 anak yang positif Ketika spesimen menunjukkan hasil positif diperisa menggunakan PCR maka hasil ujinya dianggap benar-benar positif, spesifisitasnya sebesar. $\geq 91\%$, sedangkan biakan darah menunjukkan sensitivitas sebesar 28,57%.

Abd and Hafidh, 2014 melakukan evaluasi untuk membandingkan tiga teknik klinis yang meliputi (tes Serologi-Hematologi (tes Widal dan jumlah WBC), Kultur darah, dan Polymerase Chain Reaction “PCR”) untuk deteksi *S. typhi* dari spesimen darah segar pasien yang diduga menderita demam tifoid. Hasil positif untuk deteksi *S. typhi*, yang diperoleh dari teknik ini ditunjukkan pada 192 kasus (75%), 124 kasus(48,4%), dan 117 kasus (46,1%) untuk tes PCR, Kultur darah, dan hematologi serologi. dari total 254 kasus pasien suspek yang terjangkit tifoid di Rumah Sakit Pendidikan Al-Kadhimiya. Ketika dievaluasi menunjukkan hasil sensitivitas tinggi (82,8%) dari PCR dengan signifikansi yang lebih tinggi ($P < 0,01$) sedangkan kultur darah sebesar 53,45%.

Pemeriksaan PCR yaitu menggunakan amplifikasi asam nukleat dari isolasi bakteri *S. typhi* menjadi pemeriksaan dengan nilai sensitivitas yang sangat baik, yakni mencapai 90% Beberapa gen yang dapat dijadikan target amplifikasi menggunakan PCR adalah gen Hd-Flagellin Flic-D, gen *viaB* dari kapsul, tyvelose epimerase gene (*tyv*), gen 16sRNA, gen *hila*, dan beberapa gen lain yang spesifik (Tennant *et al.*, 2015). Nilai sensitivitas PCR dari hasil kultur darah adalah 90%, walaupun dalam beberapa laporan penelitian lain didapatkan nilai sensitivitas lebih rendah). Metode PCR yang menggunakan sampel sumsum tulang memiliki nilai sensitivitas lebih baik (100%) dan hasil positif juga dilaporkan bisa ditemui pada sampel urin Pemeriksaan laboratorium PCR digunakan dalam skala kecil penelitian dan belum dapat dijadikan pemeriksaan rutin di laboratorium klinik karena tidak semua laboratorium terfasilitasi PCR.

KESIMPULAN

Metode pengujian sensitivitas hasil terbaik pada teknik PCR dibandingkan kultur darah, Namun kultur darah tetap juga direkomendasikan terutama pada rumah sakit yang tidak ada laboratorium molekuler. Pengambilan spesimen kultur darah sangat mempengaruhi hasil, pengambilan spesimen kultur darah sebaiknya dilakukan pada minggu pertama setelah terjadinya infeksi, hal ini dikarenakan pada minggu pertama sensitivitasnya bisa mencapai 40 hingga 60%. Metode pengujian spesifitas antara kultur darah dan PCR tidak ada perbedaan yang nyata diantara keduanya dalam memeriksa bakteri *S. typhi* penyebab demam tifoid.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Mataram dan seluruh pihak yang turut membantu dimulai dari proses telaah *literature review* hingga penerbitan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd, R. and Hafidh, A.H., 2014. Evaluation and Comparison of different clinical techniques for detection of local isolate of Salmonella enterica serovar typhi in patients with typhoid fever Abstract: *Al Yarmouk Journal*, 1(1), pp.88–102.
- Aliviameita, A., Agustin, M.L., Puspita, A.W., Mushlih, M., Puspitasari, P., Purwanti, Y. and Wisaksono, A., 2019. Detection of Salmonella typhi Using Multiplex and Monoplex PCR in Tifoid Fever Patients. *Medical Laboratory Technology Journal*, 5(666), pp.102–107.
- Badri, A.M., Ahmed, H.M., Ahmed, N.Y., Ahmed, H.H., Ali, S.M., Sid, S.M., Nasr, N.M. and Arbab, M.H., 2019. A Comparison study of serological test , culturing technique and molecular detection of salmonella typhi among febrile patients in Khartoum State , Sudan. *Advanced biotechnology & microbiology*, 13(4), pp.69–74.
- Crump, J.A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M.A. and Parry, C.M., 2015. Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive Salmonella infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(4), pp.901–937.
- Darton, T.C., Zhou, L., Blohmke, C.J., Jones, C., Waddington, C.S., Baker, S. and Pollard, A.J., 2017. Blood culture-PCR to optimise typhoid fever diagnosis after controlled human infection identifies frequent asymptomatic cases and evidence of primary bacteraemia. *Journal of Infection*, [online] 74(4), pp.358–366. Available at: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2017.01.006>>.
- Das, S., Ray, U., Akhter, I., Chattopadhyay, A., Paul, D.K. and Dutta, S., 2016. Evaluation of fliC-d based direct blood PCR assays for typhoid diagnosis. *BMC Microbiology*, [online] 16(1), pp.1–8. Available at: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12866-016-0723-6>>.
- Gunawan, A.P., Djuminar, A., Ernawati, E. and Chaidir, L., 2018. Pengembangan Prekultur Oxgall sebagai Sampel Klinis untuk Deteksi Salmonella typhi dengan Metode Real-time PCR. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 7(2), pp.71–77.
- Ikatan Dokter Anak Indonesia, 2016. Rekomendasi IDAI mengenai Pemeriksaan Penunjang Diagnostik Demam Tifoid. *REKOMENDASI IDAI*.
- Mawazo, A., Bwire, G.M. and Matee, M.I.N., 2019. Performance of Widal test and stool culture in the diagnosis of typhoid fever among suspected patients in Dar es Salaam, Tanzania.

BMC Research Notes, [online] 12(1), pp.1–5. Available at: <<https://doi.org/10.1186/s13104-019-4340-y>>.

- Pouzol, S., Tanmoy, A.M., Ahmed, D., Khanam, F., Abdullah Brooks, W., Bhuyan, G.S., Fabre, L., Bryant, J.E., Gustin, M.P., Vanhems, P., Carman, B., Weill, F.X., Qadri, F., Saha, S. and Endtz, H., 2019. Clinical Evaluation of a Multiplex PCR for the Detection of *Salmonella enterica* Serovars Typhi and Paratyphi A from Blood Specimens in a High-Endemic Setting. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 101(3), pp.513–520.
- Tennant, S.M., Toema, D., Qamar, F., Iqbal, N., Boyd, M.A., Marshall, J.M., Blackwelder, W.C., Wu, Y., Quadri, F., Khan, A., Aziz, F., Ahmad, K., Kalam, A., Asif, E., Qureshi, S., Khan, E., Zaidi, A.K. and Levine, M.M., 2015. Detection of typhoidal and paratyphoidal salmonella in blood by real-time polymerase chain reaction. *Clinical Infectious Diseases*, 61(Suppl 4), pp.S241–S250.
- Wain, J., Hendriksen, R.S., Mikoleit, M.L., Keddy, K.H. and Ochiai, R.L., 2015. Typhoid fever. *The Lancet*, [online] 385(9973), pp.1136–1145. Available at: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62708-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62708-7)>.
- WHO, 2018. Typhoid vaccine: WHO position paper - March 2018. *Weekly Epidemiological Record*, [online] 13(93), pp.153–172. Available at: <<https://www.who.int/publications/i/item/typhoid-vaccines-who-position-paper-march-2018>>.