

Deteksi Chlamydia trachomatis dan Neisseria gonorrhoeae menggunakan Polymerase Chain Reaction dupleks pada Duh Genital pasien infeksi menular seksual

Eustachius Hagni Wardoyo, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20329778&lokasi=lokal>

Abstrak

Latar belakang : Angka kejadian infeksi menular seksual (IMS) dengan pengeluaran duh genital di Indonesia didasarkan pada modalitas diagnosis yang masih terbatas. Survey IMS di kota besar pada kelompok resiko tinggi secara periodik memberikan gambaran infeksi klamidia dan gonore yang dominan. Perubahan patogenesis infeksi klamidia dan gonore yang disebabkan karakteristik demografik, perilaku seks dan pengobatan sendiri menyebabkan diagnosis pendekatan sindrom tidak lagi akurat.

Tujuan : Mengembangkan sistem deteksi C. trachomatis dan N. gonorrhoeae menggunakan PCR dupleks pada penderita IMS dengan pengeluaran duh genital.

Metode : Penelitian dilakukan dalam 3 tahap. Tahap I adalah tahap optimasi terhadap suhu dan waktu annealing, konsentrasi primer, waktu sentrifugasi dan volume elusi akhir. Tahap II merupakan uji spesifisitas pemeriksaan terhadap bakteri lain dan ambang deteksi dupleks PCR dan tahap III adalah aplikasi PCR dupleks terhadap spesimen klinik.

Hasil : Hasil optimasi yang didapatkan adalah sebagai berikut: suhu annealing 54°C, waktu annealing 60 detik, konsentrasi baik primer CTR dan CTF masing-masing 0,7M sedangkan konsentrasi baik primer NGR dan NGF masing-masing 0,5M, waktu sentrifugasi 10 menit dan volume elusi 60 l. Ambang deteksi DNA terendah untuk C. trachomatis adalah 0,927 pg/reaksi PCR dan untuk N. gonorrhoeae adalah 1,19 pg/reaksi PCR. PCR dupleks terhadap 23 spesimen endoserviks memberikan hasil pita yang sesuai untuk C. trachomatis sebanyak 10 kasus (43,5%) dan pita yang sesuai untuk N. gonorrhoeae sebanyak 10 kasus (43,5%) dengan 4 kasus koinfeksi. PCR dupleks pada 18 swab uretra laki-laki memberikan hasil pita yang sesuai untuk C. trachomatis sebanyak 1 kasus (0,5%) dan pita yang sesuai untuk N. gonorrhoeae sebanyak 12 kasus (66,7%). Pemeriksaan PCR dupleks terhadap N. gonorrhoeae memiliki sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif dan nilai prediksi negatif berturut-turut 100%, 61,9%, 20%, dan 100% pada spesimen endoserviks dan 75%, 40%, 50%, dan 66,67% pada spesimen uretra pria. PCR dupleks terhadap C. trachomatis dibandingkan uji deteksi antigen klamidia memiliki hasil positif lebih banyak baik pada spesimen swab endoserviks maupun uretra pria (10:3 dan 1:0).

.....Background : The incidence of sexually transmitted infections (STIs) with discharge in Indonesia is based on limited diagnostic modalities. STIs survey periodically in large cities of Indonesia to high-risk groups provide dominant pattern of C. trachomatis and N. gonorrhoeae infection. Pathogenesis change of C. trachomatis and N. gonorrhoeae infection due to demographic characteristic, sexual and self-medication behavior may reflect routine syndromic approach diagnostic is no longer accurate.

Objective : To develop detection system of C. trachomatis and N. gonorrhoeae using duplex PCR assay to

genital discharge in patient with sexual transmitted infection.

Methods : Three steps research were done. Firstly was PCR assay optimalization to annealing time and temperature, primer concentration, centrifugation time and elution volume. Secondly, specificity test and thirdly duplex PCR assay application to clinical specimen.

Results : Duplex PCR assay optimalization gave results as follow: annealing temperature was 54°C, annealing time was 60 detik, C. trachomatis primer concentration both reverse and forward were 0,7M and N. gonorrhoeae primer concentration both reverse and forward were 0,5M, centrifugation time was 10 minutes and elution volume elusi 60 l. Detection limit of duplex PCR to C. trachomatis was 0.927 pg / PCR reaction, and N. gonorrhoeae was 1,19 pg / PCR reaction. Duplex PCR application to 23 endocervical swab which corresponds to C. trachomatis were 10 cases (43.5%) and corresponds to N. gonorrhoeae were 10 cases (43.5%), with 4 coinfection cases. Duplex PCR to 18 male urethral swab which corresponds to C. trachomatis was 1 case (0.5%) and that corresponds to N. gonorrhoeae were 12 cases (66.7%). Duplex PCR to detect N. gonorrhoeae had sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of 100%, 61.9%, 20%, and 100% in endocervical specimens, respectively and 75%, 40%, 50%, and 66.67%, in male urethral specimens respectively. Duplex PCR to detect C. trachomatis was compared with chlamydial antigen detection test were show positive results higher both in endocervical and male urethral specimens (10:3 and 1:0).