

Optimizing real-time PCR method to detect *Leptospira* spp. in human blood and urine specimens

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20332866&lokasi=lokal>

Abstrak

Leptospira spp. dan digolongkan sebagai zoonosis. Gejala klinis leptospirosis yang tidak spesifik dan sulitnya uji laboratorium untuk konfirmasi diagnosis mengakibatkan penyakit ini seringkali tidak terdiagnosis. Oleh karenanya perlu dilakukan optimasi uji diagnostik molekuler menggunakan real-time PCR sebagai deteksi cepat *Leptospira* patogen yang sensitif dan spesifik. Penelitian ini di disain untuk mengoptimisasi uji diagnostik molekuler menggunakan real time-PCR sebagai metode yang sensitif dan spesifik untuk mendeteksi *Leptospira*. Metode: DNA bakteri di dalam spesimen diekstraksi menggunakan DNA extraction kit dengan prosedur sesuai dengan petunjuk manualnya. Primer dan probe yang digunakan berdasarkan penelitian terpublikasi terdahulu. Penelitian ini menggunakan mesin PCR-IQTM5, iCycler Multicolor real-time PCR detection system. Spesifisitas primer diuji menggunakan DNA bakteri patogen lain yang mungkin dapat ditemukan pada kedua spesimen dan dapat memberikan gejala klinis yang mirip. Hasil: Hasil uji real-time PCR menunjukkan bahwa kadar DNA *Leptospira* spp. terendah yang dapat terdeteksi adalah 0,375 fg/ml. Hasil uji juga menunjukkan bahwa primer yang digunakan untuk deteksi bakteri *Leptospira* spp. tidak beraksi silang dengan genom bakteri uji lainnya. Konsentrasi minimal DNA bakteri standar yang masih dapat dideteksi dengan pemeriksaan ini adalah 150 fg/ml, sedangkan dalam urin adalah 1470 fg/ml. Kesimpulan: Uji real-time PCR adalah metode yang cepat dan akurat untuk deteksi *Leptospira* spp. patogen pada spesimen manusia. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui sensitivitas dan spesifisitas dari uji real-time PCR dibandingkan dengan metode diagnostik lain.

Abstract

Background: Leptospirosis is an acute infectious disease in humans caused by *Leptospira* spp. and classified as a zoonosis. Clinical symptoms of leptospirosis are nonspecific and the current available laboratory method for detecting *Leptospira* spp. is difficult, which resulted to the misdiagnosis of this disease. Therefore, the rapid and accurate method is needed to diagnose the disease. This study was aimed to optimize molecular diagnostic test using real-time PCR assay as a rapid, sensitive and specific method for the detection of pathogenic *Leptospira* spp. in humans. **Methods:** Bacterial DNA was extracted by DNA extraction kit according to the manufacturer's instructions. Primers and probes used in this study was based on previous and published research. The assay is performed using PCR-IQTM5, iCycler Multicolor real-time PCR detection system. Specificity of the primer used was evaluated towards some bacterial pathogens. **Results:** Limit detection of the DNA was 0.375 fg/ml and the primers used does not cross-react with the genomes of the pathogens tested. Limit detection of DNA in blood is 150 fg/ml, and in urine is 1470 fg/ml. **Conclusion:** Real-time PCR test is a rapid and accurate method for detecting pathogenic *Leptospira* spp. in human specimens. Further research is needed to determine the sensitivity and specificity of real-time PCR tests compared with other diagnostic methods in clinical settings