

Deteksi molekuler virus penyebab demam menyerupai gejala demam dengue menggunakan real time RT-PCR = Molecular detection of viruses causing dengue-like fever using real time RT-PCR

Rizka Ariani, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20477091&lokasi=lokal>

Abstrak

Demam akut yang disertai gejala mirip demam Dengue nyeri kepala, nyeri sendi, ruam, perdarahan perifer seperti mimisan, ptekie adalah gejala yang paling sering dikeluhkan oleh pasien. Gejala-gejala tersebut seringkali diakibatkan infeksi arbovirus yang sangat endemik di Indonesia sebagai negara tropis. Deteksi agen penyebab infeksi tersebut sangat diperlukan untuk penatalaksanaan yang tepat. Studi ini melakukan uji optimasi untuk deteksi molekuler virus penyebab demam mirip demam Dengue, meliputi DENV, ZIKV, WNV, JEV, YFV, CHIKV, dan Hantavirus menggunakan RT PCR. Primer pada studi ini dirancang menggunakan perangkat lunak online Primer-BLAST dari NCBI dan primer-primer tersebut memenuhi kriteria untuk reaksi RT PCR. Kontrol positif pada real time RT-PCR menggunakan DNA sintetik yang dirancang sesuai dengan amplicon target virus. DNA sintetik sepanjang 1.047 pasang basa dirancang untuk digunakan pada virus ZIKV, JEV, YFV, WNV, CHIKV, dan Hantavirus. Suhu penempelan optimum pada primer-primer adalah 600C kecuali primer flavivirus universal yaitu 560C. Limit deteksi primer JEV mencapai 4.355 salinan DNA setiap reaksi real time RT PCR. Tidak terdapat reaksi silang maupun positif palsu pada sampel RNA DENV serotipe 2 maupun pada sampel orang sehat yang digunakan pada studi ini. Sebagai kesimpulan, studi ini menghasilkan primer dan protokol real time RT-PCR yang berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut untuk digunakan dalam uji diagnostik pada sampel pasien demam akut menyerupai gejala demam Dengue.

<hr />

Acute fever with Dengue like fever symptoms headache, rash, joint pain, perifer bleeding like ptechie, rinorrhoea is general symptoms that often being complained by patient. Usually the etiology agent of the symptoms are arbovirals which are endemic in Indonesia as a tropical country. In this case, molecular detection is very important to confirm the etiology of disease for prompt and adequate management. This study optimized viral molecular detection as an etiology agent for Dengue like fever symptoms using real time RT PCR. The viruses that were investigated were DENV, ZIKV, WNV, JEV, YFV, CHIKV, and Hantavirus. Primer were designed used Primer BLAST software from NCBI. Those primers fulfilled the good primer requirements and could be used in real time RT PCR reaction. Synthetic DNA with 1.047 base pairs was designed based on amplicon target to be used as control positive for ZIKV, JEV, YFV, WNV, CHIKV, and Hantavirus. The optimal annealing temperature for all primers were at 600C except for flavivirus universal primer was at 560C. The limit of detection of JEV primer was 4355 copies DNA per reaction. Cross reactivity between all primers with DENV serotype 2 RNA and healthy person sample were not found. This study still need RNA viruses as negative or positive control and clinical sample to determine the sensitivity and specificity. As a conclusion, this study provided primers and real time RT PCR protocol that potentially be further developed as diagnostic tools for patient with Dengue like fever symptoms.