

Pengembangan metode deteksi candida krusei pada sampel biologis dengan qPCR berbasis intercalating dye = Development of candida krusei detection method in biological sample with intercalating dye-based qPCR

Firyal Fairuztsana Nugraha, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20521043&lokasi=lokal>

Abstrak

Candida krusei merupakan organisme komensal pada manusia sehat, namun pada pasien dengan gangguan sistem kekebalan tubuh dapat menjadi patogen oportunistik. Candida krusei memiliki prevalensi yang rendah, namun tingkat mortalitas yang cukup tinggi sehingga diperlukan metode deteksi yang cepat dengan sensitivitas serta spesifisitas yang tinggi. Quantitative PCR berbasis intercalating dye merupakan teknik amplifikasi DNA yang mendeteksi secara real-time, namun dapat berikatan secara non-spesifik pada DNA untai ganda yang rentan terhadap kesalahan sehingga diperlukan primer yang baik dan spesifik. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode deteksi Candida krusei menggunakan qPCR berbasis intercalating dye dengan merancang primer secara in silico dengan target gen ITS yang memiliki karakteristik baik dan spesifik terhadap Candida krusei serta dilakukan uji spesifisitas primer pada beberapa spesies jamur dan uji sensitivitas pada sampel biologis (whole blood) manusia. Hasil perancangan primer yang diperoleh adalah primer Cc3 yang memiliki panjang masing-masing adalah 20 dan 18 oligonukleotida dengan karakterisasi yang baik. Hasil uji spesifisitas dengan qPCR berbasis intercalating dye pada tiga Candida sp. dan satu spesies Malassezia menunjukkan hasil yang spesifik dimana hanya dapat mendeteksi Candida krusei. Hasil uji sensitivitas pada sampel biologis (whole blood) menunjukkan bahwa qPCR berbasis intercalating dye menggunakan primer Cc3 mampu mendeteksi hingga batas 1000 sel/mL.

.....Candida krusei is a commensal organism in healthy humans, but in patients with immunocompromised it can become an opportunistic pathogen. Candida krusei has a low prevalence with a fairly mortality rate. Intercalating dye-based quantitative PCR is a DNA amplification technique that allows real-time detection, however it can binds to any double-stranded DNA unspecifically which is error-prone, primer with a good characteristics and specific is needed. This study aims to develop a Candida krusei detection method using intercalating dye-based quantitative PCR was carried out by primers designing in silico with the target gene for ITS which has good characteristics for Candida krusei, and specificity tests in several fungal species and sensitivity tests in human biological sample (whole blood). The primer design results obtained are primer Cc3 which has lengths of 20 and 18 oligonucleotides with good characterization. The results of the specificity tests with intercalating dye-based qPCR in three Candida sp. and one Malassezia sp. showed specific results which were only able to detect Candida krusei. The results of the sensitivity tests in whole blood sample showed that intercalating dye-based qPCR using a primer that had been designed was able to detect up to 1000 cells/mL.