

Deteksi sekaligus perbedaan galur secara langsung dari spesimen klinik dan isolat mycobacterium tuberculosis dengan teknik spoligotyping

R. Lia Kusumawati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=93534&lokasi=lokal>

Abstrak

Salah satu penyebab kegagalan pengendalian tuberkulosis di Indonesia, adalah karena lemahnya deteksi dini kasus infeksi disamping kegagalan terapi kasus yang resisten terhadap obat anti tuberkulosis dan hambatan dalam melakukan kontrol tuberkulosis. Dengan ditemukannya teknik molekuler spoligotyping (spacer obgofrzicleolide tyeing) yang dilakukan berdasarkan polimorfisme/keragaman spacer diantara daerah direct repeat (DR) pada genom M tuberculosis complex, dapat dilakukan perbedaan galur-galur diantara M tuberculosis complex.

Peneitian ini bertujuan untuk melakukan deteksi cepat sekaligus dapat membedakan galur M tuberculosis langsung dari spesimen klinik tanpa melakukan pembiakan kuman. Sebanyak 29 sampei klinik bakteri M tuberculosis, terdiri dari 5 sampel sputum penderita tuberkulosis dan 24 sampel isolat M tuberculosis dilakukan pemeriksaan mikroskopik BTA, pembiakan pada medium Lowenstein-Jensen, uji biokimia, uji resistensi. Serta ekstraksi DNA. Sebagai standard digunakan 1 galur M bovis BCG dari vaksin BCG. DNA dari sampel isolat diekstraksi dengan fenol-kloroform, DNA dri sampel sputum dan M bovis BC G diekstraksi dengan metode Boom.

DNA hasil ekstraksi dibulctikan dengan teknik PCR menggunakan pimer Pt8 & Pt9 untuk melihat fragmen spesifik DNA tuberculosis complex berukuran 541 bp. Pada teknik spoligogfping, uji PCR dilakukan dengan primer DRa dan DRb berlabel biotin untuk ampliiikasi sekwens direct repeat (DR) DNA M tuberculosis complex. DNA hasil amplifikasi dihibridisasi dengan 1 set pelacak yang terdiri dan 43 jenis oiiigonukleotida space; menggunakan membran Hybond N'. Deteksi DNA hasil hibridisasi dilakukan dengan Streptavidin Horseradish Peroksidase dan alat deteksi substrat khemiluminesen ECL (Amersham) kemudian dipaparkan pada film sinar-X(Kodak). Hasil dan Kesimpulan: Sebanyak 8 sampel klinik dari penderita tuberkulosis dan 1 sampe1M bovis BCG, telah dianalisis dengan teknik spoligozjvping.

Hasil identifikasi dari 9 sampel yang dihibridisasi menunjukkan 8 pola hibridisasi yang berbeda, satu diantara isolat MDR yang dianalisis, mempunyai pola hibtfidisasi yang identik dengan galur Beijing yang ditemukan luas di Asia Timur dan juga telah ditemukan di Inggris. Dua Sampel sputum dari seorang pendentatuberkulosis yang dikumpulkan dalam 2 kali pengambilan yang berbeda memberikan pola hibridisasi yang sama. Teknik spoligozytyping dapat diterapkan langsung pada sampei kiinik untuk deteksi cepat infeksi M tuberculosis sekaligus dapat membedakan galur kuman pada penderita tuberkulosis, sehingga dapat digunakan untuk diagnosis dan pemantauan penyebaran kurnau penyakit tuberkulosis.