

	PEMERIKSAAN RT-PCR SARS-CoV-2 DENGAN REAGEN T EXAMPLEX COVID-19 PCR 3-GEN LYO KIT		
	No. Dokumen : OT.02.02/D.XXIII/7924/2024	No. Revisi : 00	Halaman : 1/4
STANDAR PROSEDUR OPERASIONAL	Tanggal Terbit : 11 September 2024	Ditetapkan : Direktur Utama RSPON Prof. Dr. dr. Mahar Mardjono Jakarta  dr. ADIN NULKHASANAH, Sp.S., MARS	
PENGERTIAN	Merupakan pemeriksaan laboratorium kualitatif untuk mendeteksi adanya gen ORF1ab, gen N dan gen E dari SARS-CoV-2 pada spesimen menggunakan reagen T ExApmplex COVID-19 PCR 3-gen Lyo kit		
TUJUAN	Memberikan petunjuk kepada Pranata Laboratorium Kesehatan (PLK) mengenai tata cara pemeriksaan RT-PCR SARS-CoV-2 menggunakan reagen T ExAmplex COVID-19 PCR 3-gen Lyo kit		
KEBIJAKAN	Keputusan Direktur Utama RSPON Prof. Dr. dr. Mahar Mardjono Jakarta Nomor HK.02.03/D.XXIII/828/2024 tentang Pedoman Pelayanan Instalasi Laboratorium dan Bank Darah		
PROSEDUR	A. Metode <i>Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i> B. Prinsip Teknik amplifikasi RNA dengan produk amplifikasi dianalisis pada setiap siklus menggunakan <i>fluorogenic probe</i>. C. Spesimen 1. Jenis : <i>swab</i> nasofaring dan orofaring 2. Stabilitas : 2-8°C selama 5 hari D. Reagensia 1. Jenis : T ExAmplex COVID-19 PCR 3-gen Lyo kit, terdiri dari ➤ Kontrol positif (pelet kering dalam vial) ➤ <i>Nuclease-free water</i> (1.5 mL) ➤ Strip tabung reaksi berisi reagen dalam bentuk manik-manik kering yang mengandung <i>primer</i> oligonukleotida, <i>probe</i> hidrolisis berlabel ganda, dan enzim 2. Stabilitas : 2-30 °C hingga tanggal kedaluwarsa E. Langkah Kerja 1. Preparasi <i>master mix</i> dan penambahan kontrol negatif ➤ Meletakkan strip tabung reaksi di rak tabung dan membuka tutup tabung. ➤ Menambahkan 15 µL <i>nuclease-free water</i> ke dalam tiap tabung untuk melarutkan manik-manik reagen. ➤ Menutup tabung dengan rapat dan menggoyangkan strip tabung reaksi dengan lembut. ➤ Membuat <i>master mix</i> sesuai jumlah reaksi yang dibutuhkan (total dari jumlah spesimen, kontrol positif, kontrol negatif) di dalam <i>biosafety cabinet</i> ruang <i>master mix</i> dalam kondisi minim cahaya.		

PEMERIKSAAN RT-PCR SARS-CoV-2

DENGAN REAGEN T EXAMPLEX COVID-19 PCR 3-GEN LYO KIT

No. Dokumen :

OT.02.02/D.XXIII/7924/2024

No. Revisi :

00

Halaman :

2/4

PROSEDUR

- Memasukkan *master mix* masing-masing 15 μ L pada *well plate* atau strip.

➤ Memasukkan *nuclease-free water* sebagai kontrol negatif sebanyak 5 μ L ke *well* 1A.

➤ Memasukkan *plate master mix* ke ruang ekstraksi dalam kondisi minim cahaya untuk penambahan RNA spesimen hasil ekstraksi dan kontrol positif.

2. Penambahan RNA dan kontrol positif ke *master mix*

➤ Melarutkan kontrol positif dengan 150 μ L *nuclease-free water* kemudian homogenisasi dengan cara mem-*vortex* 1-2 detik sebelum memipet.

➤ Memipet dan mencampurkan RNA spesimen hasil ekstraksi dan kontrol positif sebanyak 5 μ L ke tiap *well plate* atau strip sesuai *template* PCR dalam kondisi minim cahaya.

➤ Menutup strip menggunakan cap strip dan menutup *plate* dengan *sealing film*, lalu memasukkan ke ruang PCR untuk *running* dengan alat PCR.

3. *Real-time* PCR menggunakan LightCycler 96

➤ Merujuk pada SPO Pengoperasian Alat LightCycler 96

➤ Program disesuaikan dengan *step* di bawah ini :

Step	Suhu	Waktu	Siklus	Acquisition mode
RT	54°C	15 detik	1	None
Denaturasi	95°C	5 menit	1	None
Amplifikasi	95°C	15 detik	45	None
	63°C	40 detik	45	FAM, HEX, Texas Red dan Cy5

➤ Memasukkan keterangan :

✓ gen FAM : gen ORF1ab

✓ HEX : gen N

✓ Texas Red : gen E

✓ Cy5 : gen IC

➤ Analisis data menggunakan “*Abs Quant*”.

4. *Real-time* PCR menggunakan Cobas z480

➤ Merujuk pada SPO Pengoperasian dan Pemeliharaan Alat Cobas z480

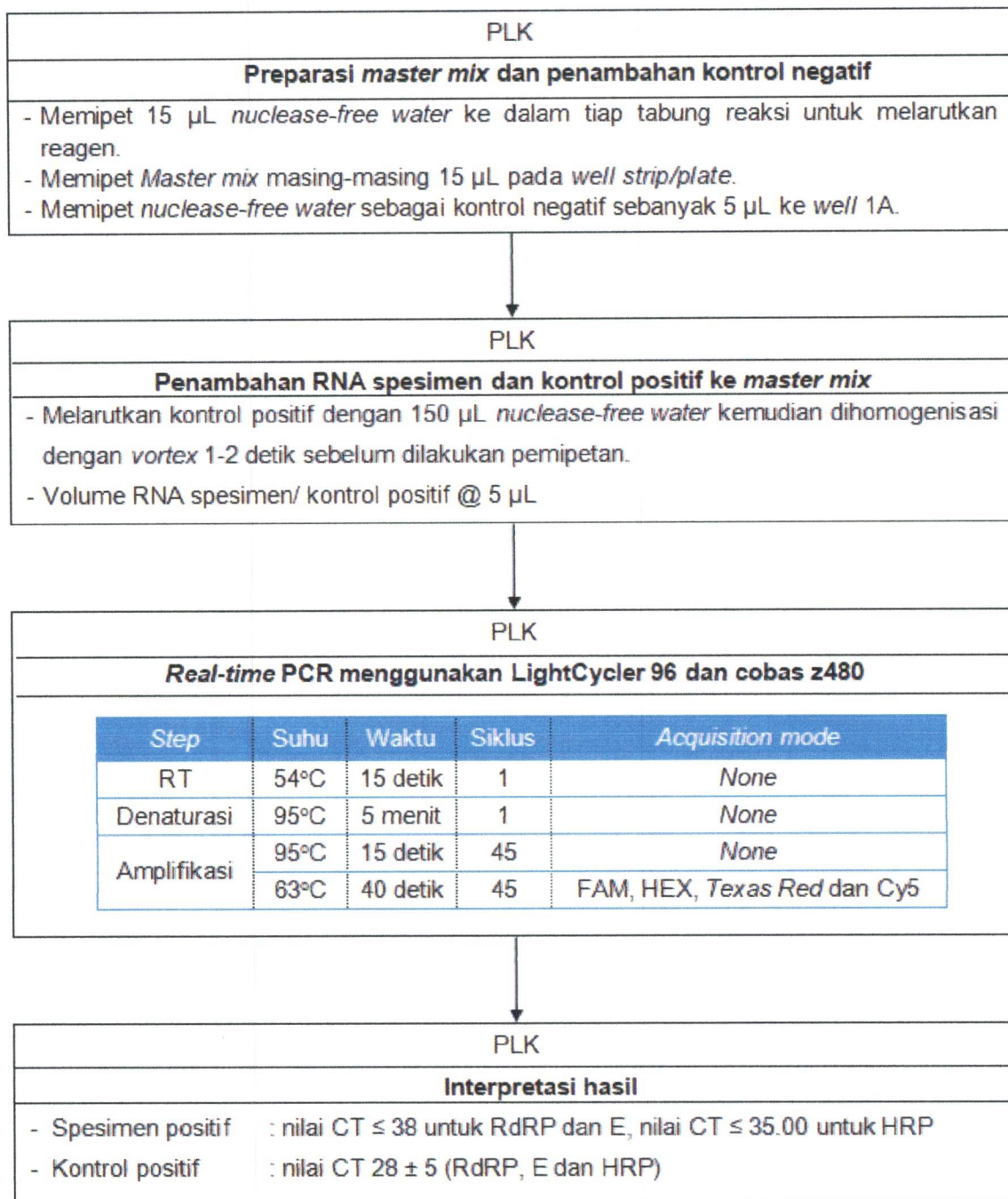
➤ Program disesuaikan dengan *step* di bawah ini :

Step	Suhu	Waktu	Siklus	Acquisition mode
RT	54°C	15 detik	1	None
Denaturasi	95°C	5 menit	1	None
Amplifikasi	95°C	15 detik	45	None
	63°C	40 detik	45	FAM, HEX, Texas Red dan Cy5

➤ Analisis data menggunakan “*Abs Quant/ 2nd Derivative Max*”

	PEMERIKSAAN RT-PCR SARS-CoV-2 DENGAN REAGEN T EXAMPLEX COVID-19 PCR 3-GEN LYO KIT																																																																											
	No. Dokumen : OT.02.02/D.XXIII/7924/2024	No. Revisi : 00	Halaman : 3/4																																																																									
PROSEDUR	F. Interpretasi Hasil Amplifikasi dinyatakan positif apabila nilai CT ≤ 40.00, dengan interpretasi sebagai berikut: <table><thead><tr><th rowspan="2">Jenis Sampel</th><th colspan="4">Hasil</th><th rowspan="2">Interpretasi</th></tr><tr><th>FAM (ORF1ab)</th><th>HEX (N)</th><th>Texas Red (E)</th><th>Cy5 (IC)</th></tr></thead><tbody><tr><td rowspan="9">Spesimen</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+/-</td><td rowspan="5">Positif SARS-CoV-2</td></tr><tr><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>+/-</td></tr><tr><td>+</td><td>-</td><td>+</td><td>+/-</td></tr><tr><td>-</td><td>+</td><td>-</td><td>+/-</td></tr><tr><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>+/-</td></tr><tr><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>+/-</td><td>Positif Pan-corona</td></tr><tr><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>Negatif SARS-CoV-2</td></tr><tr><td>+</td><td>-</td><td>-</td><td>+/-</td><td rowspan="2">Invalid</td></tr><tr><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td></tr><tr><td rowspan="2">Kontrol positif</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+/-</td><td>Valid</td></tr><tr><td colspan="3">Ada 1 atau lebih gen hasil (-)</td><td>+/-</td><td>Invalid</td></tr><tr><td rowspan="2">Kontrol negatif</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>Valid</td></tr><tr><td colspan="3">Ada 1 atau lebih gen hasil (+)</td><td></td><td>Invalid</td></tr></tbody></table>			Jenis Sampel	Hasil				Interpretasi	FAM (ORF1ab)	HEX (N)	Texas Red (E)	Cy5 (IC)	Spesimen	+	+	+	+/-	Positif SARS-CoV-2	+	+	-	+/-	+	-	+	+/-	-	+	-	+/-	-	+	+	+/-	-	-	+	+/-	Positif Pan-corona	-	-	-	+	Negatif SARS-CoV-2	+	-	-	+/-	Invalid	-	-	-	-	Kontrol positif	+	+	+	+/-	Valid	Ada 1 atau lebih gen hasil (-)			+/-	Invalid	Kontrol negatif	-	-	-	-	Valid	Ada 1 atau lebih gen hasil (+)				Invalid
	Jenis Sampel	Hasil				Interpretasi																																																																						
FAM (ORF1ab)		HEX (N)	Texas Red (E)	Cy5 (IC)																																																																								
Spesimen	+	+	+	+/-	Positif SARS-CoV-2																																																																							
	+	+	-	+/-																																																																								
	+	-	+	+/-																																																																								
	-	+	-	+/-																																																																								
	-	+	+	+/-																																																																								
	-	-	+	+/-	Positif Pan-corona																																																																							
	-	-	-	+	Negatif SARS-CoV-2																																																																							
	+	-	-	+/-	Invalid																																																																							
	-	-	-	-																																																																								
Kontrol positif	+	+	+	+/-	Valid																																																																							
	Ada 1 atau lebih gen hasil (-)			+/-	Invalid																																																																							
Kontrol negatif	-	-	-	-	Valid																																																																							
	Ada 1 atau lebih gen hasil (+)				Invalid																																																																							
UNIT TERKAIT	G. Nilai Rujukan Negatif, tidak terdeteksi adanya gen ORF1ab, N dan E dari SARS-CoV-2 pada spesimen.																																																																											
	- Instalasi Rawat Inap - Instalasi Rawat Jalan dan Neurodiagnostik - Instalasi Gawat Darurat - Instalasi Rawat Intensif - Instalasi Bedah Sentral - Pihak eksternal yang bekerjasama dengan RSPON untuk pemeriksaan PCR																																																																											

**ALUR PEMERIKSAAN RT-PCR SARS-CoV-2
DENGAN REAGEN T EXAMPLEX COVID-19 PCR 3-GEN LYO KIT**



	Rumah Sakit Pusat Otak Nasional Prof. Dr.dr. Mahar Mardjono Jakarta “Formulir Penambahan / Perubahan Dokumen”	No. Dokumen	: OT.02.02/D.XXIII/7924/2024
		Tanggal Efektif	: 11 September 2024
		Halaman	: 4 (empat) halaman

Dengan ini kami mengajukan perubahan dokumen yang ada pada Instalasi Laboratorium dan Bank Darah kami, sebagai berikut :

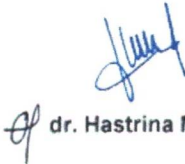
Tanggal : 06 September 2024

☒ Penambahan Dokumen
☐ Perubahan Dokumen
☐ Pengurangan Dokumen

Nama : dr. Hastrina Mailani, Sp.PA

Unit Kerja : Instalasi Laboratorium dan Bank Darah

TTD PEMOHON



dr. Hastrina Mailani, Sp.PA

Beri tanda ☒ pada kotak yang diperlukan

No	Nomor Dokumen (Sebelumnya)	Status Revisi	Dasar Perubahan	Uraian Kondisi Sebelum	Uraian Kondisi Sesudah
1	-	ke-0	1. SK Direktur Utama RS Pusat Otak Nasional Nomor: HK.02.03/D.XXIII/828/2024 tentang Pedoman Pengorganisasian dan Pelayanan Instalasi Laboratorium. 2. Permenpan Nomor 35 Tahun 2012 tentang Pedoman Penyusunan Standar Operasioal Prosedur Administrasi Pemerintah. 3. Karena ketentuan pedoman dalam unit kerja diperlukan agar tugas dan fungsi masing-masing PLK dapat dilaksanakan dengan baik dan benar 4. Belum ada dokumen SPO	-	Dokumen baru