



PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS  
PATOLOGI KLINIK DAN KEDOKTERAN LABORATORIUM INDONESIA  
(PDS PatKLIn)

Sekretariat:

Jl. Lontar Raya No.5 RT.002/05 Menteng Atas-Sahardjo Jakarta Selatan - 12960  
Telp. 021-8308195, Fax: (021) 8308295  
email: pppatklin@yahoo.com  
www.pdspatklin.or.id

**PANDUAN TATALAKSANA PEMERIKSAAN  
NAAT (NUCLEIC ACID AMPLIFICATION TEST) SARS-CoV-2**

- 1) Pemeriksaan NAAT SARS-CoV-2 adalah pemeriksaan berbasis amplifikasi asam nukleat untuk mendeteksi dan mengidentifikasi materi genetik RNA virus SARS-CoV-2.
- 2) Terdapat beberapa metode NAAT yang dapat digunakan untuk mendeteksi RNA virus SARS-CoV-2; yaitu antara lain:
  - *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)*;
  - *Transcription Mediated Amplification (TMA)*;
  - *Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP)*;
  - *Nicking Endonuclease Amplification Reaction (NEAR)*;
  - *Helicase-dependent amplification (HDA)*;
  - *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)*;
  - *Strand Displacement Amplification (SDA)*;
  - *Insulated Isothermal Polymerase Chain Reaction (iiPCR)*

**Sensitivitas setiap metode NAAT dapat berbeda dalam mendeteksi materi genetik dalam spesimen.**

- 3) Pemeriksaan NAAT SARS-CoV-2 **direkomendasikan** untuk :
  - skrining;
  - penegakkan diagnosis pada pasien simtomatis (suspek/probabel) atau kontak erat (asimtomatik);
  - konfirmasi hasil pemeriksaan metode lain pada pasien skrining, simtomatis (suspek/probabel) atau kontak erat (asimtomatik).
- 4) **Pengambilan dan penanganan spesimen**
  - **Harus memperhatikan *isolation precaution (kewaspadaan isolasi)*** untuk mencegah terjadinya penularan infeksi.
  - Pemilihan jenis spesimen memperhatikan tujuan pemeriksaan, kondisi pasien, dan riwayat perjalanan penyakit. Spesimen saluran nafas bagian atas direkomendasikan untuk diagnosis awal baik pada pasien simtomatis maupun asimtomatik.



# PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS PATOLOGI KLINIK DAN KEDOKTERAN LABORATORIUM INDONESIA (PDS PatKLIn)

Sekretariat:

Jl. Lontar Raya No.5 RT.002/05 Menteng Atas-Sahardjo Jakarta Selatan - 12960

Telp. 021-8308195, Fax: (021) 8308295

email: pppatklin@yahoo.com

www.pdspatklin.or.id

- Jenis spesimen yang dapat digunakan antara lain:
  - Usap (*swab*) nasofaring;
  - Usap (*swab*) orofaring;
  - Sputum;
  - Aspirat saluran nafas bagian bawah;
  - Bilas bronkoalveolar/*bronchoalveolar lavage* (BAL);
  - Aspirat nasofaring atau aspirat nasal;
  - Usap (*swab*) rektal;
  - Saliva.
- Pemilihan wadah spesimen seperti media transpor (yaitu *viral transport medium* / VTM atau *universal transport medium* / UTM) disesuaikan dengan anjuran dari reagen/alat yang digunakan.
- Prosedur pengambilan, penanganan dan pengiriman spesimen dilakukan sesuai dengan SPO (Standar Prosedur Operasional) di institusi masing-masing.
- **Pengelolaan limbah** terkait pengambilan dan penanganan spesimen SARS-CoV-2 **WAJIB** mengikuti pedoman Kementerian Kesehatan mengenai **Pengelolaan Limbah B3 Medis Padat** seperti tertuang dalam “Pengelolaan Limbah Rumah Sakit Rujukan, Rumah Sakit Darurat dan Puskesmas yang Menangani Pasien COVID-19” (dapat diunduh di *website* PDS PatKLIn sebagai berikut: <https://www.pdspatklin.or.id/post/update-covid-19>)
- Berbagai data pasien seperti riwayat perjalanan penyakit, riwayat kontak dan tujuan pemeriksaan harus disertakan.

## 5) Pelaksanaan pemeriksaan NAAT SARS-CoV-2

- Disupervisi dan diinterpretasi oleh dokter/ahli laboratorium terlatih.
- Dikerjakan oleh staf terlatih.
- Secara garis besar, teknik pengerjaan NAAT SARS CoV-2 dibagi menjadi 2; yaitu:
  - *laboratory based* NAAT dimana pemeriksaan dilakukan di laboratorium berstandar *biosafety laboratory-2* (BSL-2); yaitu laboratorium dengan tata ruang dan alur prosedur kerja sesuai dengan standar pemeriksaan NAAT dan minimal menggunakan *biosafety cabinet* (BSC) kelas II. Prosedur pencampuran reagen dan ekstraksi terpisah dengan prosedur amplifikasi dan deteksi.
  - *point of care testing* (POCT) atau tes cepat molekuler (TCM) dimana seluruh prosedur (ekstraksi, amplifikasi dan deteksi) berlangsung di dalam satu alat.



**PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS  
PATOLOGI KLINIK DAN KEDOKTERAN LABORATORIUM INDONESIA  
(PDS PatKLIn)**

Sekretariat:

Jl. Lontar Raya No.5 RT.002/05 Menteng Atas-Sahardjo Jakarta Selatan - 12960  
Telp. 021-8308195, Fax: (021) 8308295  
email: pppatklin@yahoo.com  
www.pdspatklin.or.id

Prosedur ini dapat berbasis RT-PCR maupun isothermal dan dapat dikerjakan langsung di meja kerja tanpa menggunakan BSC kelas II sesuai *insert kit* masing-masing penyedia; dengan memperhatikan beberapa kriteria berikut:

- Area kerja berventilasi baik;
- Meja kerja/pemeriksaan mudah dibersihkan;
- Menggunakan alat pelindung diri (APD) yang tepat;
- Berbagai langkah prosedur pemeriksaan NAAT dilakukan berdasarkan cara kerja dari reagen/alat yang digunakan.
- Pemeriksaan NAAT harus menyertakan *internal control* (IC), kontrol positif dan kontrol negatif untuk menilai keseluruhan proses. Jenis *internal control* yang dapat digunakan antara lain:
  - *Human genome (housekeeping gene)*: RPP30, RNaseP
  - *Synthetic Internal Control*
- **Pengelolaan limbah** terkait pengerjaan NAAT SARS-CoV-2 **WAJIB** mengikuti pedoman Kementerian Kesehatan mengenai **Pengelolaan Air Limbah** dan **Pengelolaan Limbah B3 Medis Padat** seperti tertuang dalam “Pengelolaan Limbah Rumah Sakit Rujukan, Rumah Sakit Darurat dan Puskesmas yang Menangani Pasien COVID-19” (dapat diunduh di *website* PDS PatKLIn: <https://www.pdspatklin.or.id/post/update-covid-19>)

**6) Target gen pemeriksaan NAAT SARS-CoV-2**

- Target gen SARS-CoV-2 yang digunakan berbeda-beda berdasarkan reagen yang tersedia dan sebelumnya sudah dilakukan optimalisasi. Contoh target gen yang sering digunakan disajikan pada gambar 1 dan tabel 1.

**Tabel 1. Contoh Target Gen SARS-CoV-2.**

<b>Gen</b>	<b>Pemeriksaan</b>
E ( <i>Envelope</i> )	E
N ( <i>Nucleocapsid</i> )	N, N1, N2, N3
ORF ( <i>Open Reading Frame</i> )	ORF1ab, ORF1a, ORF1b, RdRp, Helicase, ORF 3a
S ( <i>Spike</i> )	S
M ( <i>Membrane</i> )	M



# PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS PATOLOGI KLINIK DAN KEDOKTERAN LABORATORIUM INDONESIA (PDS PatKLIn)

Sekretariat:

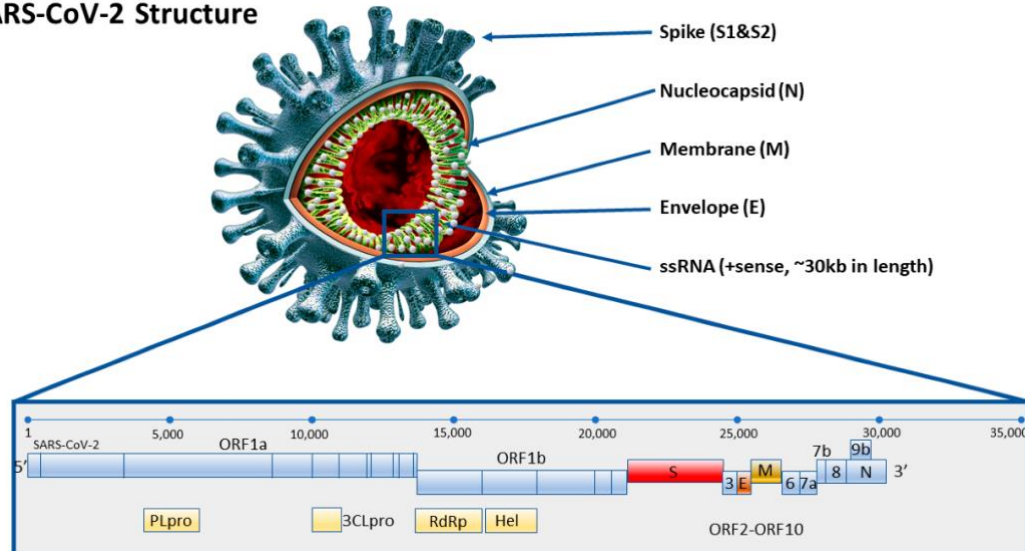
Jl. Lontar Raya No.5 RT.002/05 Menteng Atas-Sahardjo Jakarta Selatan - 12960

Telp. 021-8308195, Fax: (021) 8308295

email: pppatklin@yahoo.com

www.pdspatklin.or.id

## SARS-CoV-2 Structure



**Gambar 1. Struktur dan Gen Target SARS-CoV-2.** Dikutip dari: Kubina R, 2020.

- *Laboratory based* NAAT (umumnya dengan metode *real time reverse transcription polymerase chain reaction*/rRT-PCR) dianjurkan untuk menggunakan minimal 2 target gen untuk mendeteksi SARS-CoV-2.
- Pemeriksaan metode POCT / TCM umumnya bersifat *closed system* dengan menggunakan 1 (satu) atau lebih target gen.
- Terkait dengan munculnya varian-varian baru SARS-CoV-2, laboratorium pemeriksaan dengan *laboratory based* NAAT maupun POCT/TCM harus secara berkala melakukan evaluasi terhadap hasil-hasil pemeriksaan dan melakukan pengiriman spesimen ke laboratorium rujukan yang telah ditunjuk sesuai surat Badan Litbangkes Kemenkes No SR.01.07/II/2675/2021 tanggal 24 Februari 2021 terkait pengiriman spesimen COVID-19 sebagai Surveilans Genom Virus SARS-CoV-2.

## 7) Interpretasi Hasil Pemeriksaan NAAT SARS-CoV-2

- Interpretasi hasil pemeriksaan NAAT dilakukan oleh ahli laboratorium dengan mempertimbangkan faktor pra-analitik, analitik dan post-analitik yang baik;
- Interpretasi hasil pemeriksaan NAAT dilakukan sesuai dengan reagen/alat yang digunakan serta dengan mempertimbangkan data-data pasien.
- Hasil pemeriksaan NAAT dikeluarkan sebagai **Positif** atau **Negatif**.
- Hasil inkonklusif atau *presumptive* perlu ditindaklanjuti dengan proses konfirmasi atau pengulangan, dengan mempertimbangkan kemungkinan penyebab dan data-data pasien.



# PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS PATOLOGI KLINIK DAN KEDOKTERAN LABORATORIUM INDONESIA (PDS PatKLIn)

Sekretariat:

Jl. Lontar Raya No.5 RT.002/05 Menteng Atas-Sahardjo Jakarta Selatan - 12960

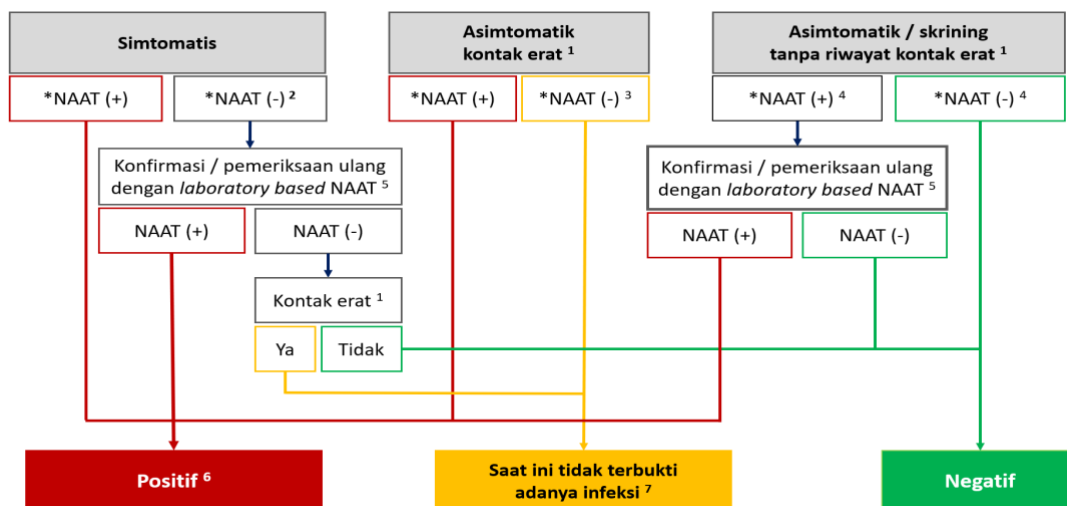
Telp. 021-8308195, Fax: (021) 8308295

email: pppatklin@yahoo.com

www.pdspatklin.or.id

- Beberapa faktor yang dapat menyebabkan hasil inkonklusif atau *presumptive* antara lain:
  - kualitas spesimen yang kurang baik (*swab* yang tidak adekuat, kualitas media transpor yang kurang baik, tidak menggunakan *swab* yang dipersyaratkan, proses *transport cold chain* yang tidak adekuat) sehingga materi genetik pada spesimen tidak adekuat;\_
  - permasalahan pada ekstraksi RNA;
  - infeksi *beta corona virus* lain (selain SARS-CoV-2);
  - perbedaan sensitivitas antar gen target NAAT terutama pada *viral load* yang rendah.
- *Laboratory based* NAAT (rRT-PCR) umumnya memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan NAAT berbasis POCT/TCM sehingga dapat digunakan untuk mengkonfirmasi hasil bila diperlukan.

## 8) Algoritma Pemeriksaan NAAT SARS-CoV-2



### Keterangan:

\* Pemeriksaan dapat menggunakan *laboratory based* NAAT atau POCT/TCM NAAT, sesuai ketersediaan.

<sup>1</sup> Periode riwayat kontak erat dengan penderita COVID-19 adalah dalam 14 hari terakhir.

<sup>2</sup> Apabila orang yang bergejala (simtomatis) memiliki kecenderungan rendah terhadap infeksi COVID-19, keputusan untuk konfirmasi atau pemeriksaan ulang didasarkan pada pertimbangan klinis.

<sup>3</sup> Pertimbangkan berbagai faktor yang dapat menyebabkan hasil negatif palsu; seperti waktu pengambilan yang terlalu cepat. Kondisi ini membutuhkan pemantauan gejala klinis untuk menentukan kebutuhan konfirmasi atau pemeriksaan ulang.



# PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS PATOLOGI KLINIK DAN KEDOKTERAN LABORATORIUM INDONESIA (PDS PatKLIn)

Sekretariat:

Jl. Lontar Raya No.5 RT.002/05 Menteng Atas-Sahardjo Jakarta Selatan - 12960

Telp. 021-8308195, Fax: (021) 8308295

email: pppatklin@yahoo.com

www.pdspatklin.or.id

- <sup>4</sup> Keputusan untuk konfirmasi atau pemeriksaan ulang perlu mempertimbangkan prevalensi kasus COVID-19 di area terkait dan pertimbangan klinis.
- <sup>5</sup> Keputusan untuk konfirmasi/pemeriksaan ulang didasarkan pada pertimbangan klinis. Konfirmasi/pemeriksaan ulang sebaiknya menggunakan *laboratory based NAAT* (rRT-PCR) menggunakan spesimen yang optimal dengan mempertimbangkan faktor pra-analitik, analitik dan post-analitik yang baik.
- <sup>6</sup> Terkonfirmasi positif atau terbukti terinfeksi SARS-CoV-2. Tatalaksana mengikuti pedoman yang berlaku.
- <sup>7</sup> Meskipun infeksi SARS-CoV-2 belum terbukti, individu perlu menjalani isolasi. Pemeriksaan konfirmasi atau pemeriksaan ulang dalam kondisi ini membutuhkan pertimbangan klinis.

## 9) Nilai Ct pada Pemeriksaan NAAT SARS-CoV-2 Metode rRT-PCR

- Pemeriksaan rRT-PCR SARS-CoV-2 hingga saat ini merupakan **pemeriksaan kualitatif**.
- Nilai Ct (*cycle threshold value*) berkorelasi dengan jumlah materi genetik virus dalam spesimen, namun membutuhkan pertimbangan komprehensif terkait faktor pra-analitik (ketepatan waktu pengambilan sampel, jenis spesimen, pengumpulan dan penyimpanan spesimen) dan analitik (ketepatan ekstraksi, spesifisitas reagen, variasi nilai Ct untuk setiap alat/reagen) **sehingga nilai Ct tidak direkomendasikan sebagai satu-satunya dasar untuk menilai tingkat infeksius individu, penentuan risiko penularan maupun untuk penetapan selesainya masa karantina/isolasi individu.**
- Pelaporan nilai Ct untuk menilai perjalanan infeksi membutuhkan pertimbangan dokter penanggung jawab laboratorium/pemeriksaan dan dokter penanggung jawab pasien.

## 10) Pelaporan Hasil NAAT SARS-CoV-2

Sesuai surat edaran Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.02.01/MENKES/234/2020 tanggal 7 April 2020, hasil pemeriksaan NAAT dilaporkan melalui laman <https://allrecord-tc19.kemkes.go.id/>

## 11) Berbagai tautan terkait

- **Pengambilan, penanganan dan pengiriman spesimen**  
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>
- **WHO Technical Guidance - Coronavirus disease (COVID-19)**  
<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance-publications>



PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS  
PATOLOGI KLINIK DAN KEDOKTERAN LABORATORIUM INDONESIA  
(PDS PatKLIn)

Sekretariat:

Jl. Lontar Raya No.5 RT.002/05 Menteng Atas-Sahardjo Jakarta Selatan - 12960  
Telp. 021-8308195, Fax: (021) 8308295  
email: pppatklin@yahoo.com  
www.pdspatklin.or.id

- **Pemeriksaan NAAT yang telah mendapatkan FDA EUA (*Emergency Use Approval*)**  
<https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/in-vitro-diagnostics-euas-molecular-diagnostic-tests-sars-cov-2>
- **Reagen-reagen yang berpotensi terdampak mutasi**  
<https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/sars-cov-2-viral-mutations-impact-covid-19-tests>
- **Pedoman PDS PatKLIn terkait COVID-19**  
<https://www.pdspatklin.or.id/post/update-covid-19>

#### DAFTAR PUSTAKA

Bhattacharya S, Vidyadharan A, Joy VM. Inconclusive SARS CoV2 Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction test reports: Interpretation, Clinical and Infection Control Implication. *J Acad Clin Microbiol* 2020;22:59-61.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Interpreting Result of Diagnostic Tests. 2021. Diakses dari <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/fags.html>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Nucleic Acid Amplification Tests (NAATs). 2021. Diakses dari <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/naats.html>

de Kock R, Baselmans M, Scharnhorst V, Deiman B. Sensitive detection and quantification of SARS-CoV-2 by multiplex droplet digital RT-PCR. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2021;40(4):807-13.

Kubina R, Dziedzic A. Molecular and Serological Tests for COVID-19: A comparative review of SARS-CoV-2 coronavirus laboratory and point-of-care diagnostics. *Diagnostics* 2020;10(6):434.

Petrillo S, et al. A Novel Multiplex qRT-PCR Assay to Detect SARS-CoV-2 Infection: High Sensitivity and Increasing Testing Capacity. *Microorganisms* 2020;8:1064.

Rosentraus M, Wang Z, Chang SY, de Bonville D, Spadoro JP. An internal control for routine diagnostic PCR: design, properties and effect on clinical performance. *J Clin Microbiol* 1998;36(1): 191-7.



**PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS  
PATOLOGI KLINIK DAN KEDOKTERAN LABORATORIUM INDONESIA  
(PDS PatKLIn)**

Sekretariat:

Jl. Lontar Raya No.5 RT.002/05 Menteng Atas-Sahardjo Jakarta Selatan - 12960

Telp. 021-8308195, Fax: (021) 8308295

email: pppatklin@yahoo.com

www.pdspatklin.or.id

World Health Organization (WHO). Information notice for IVD users 2020/05: Nucleic Acid Testing (NAT) technologies that use polymerase chain reaction (PCR) for detection of SARS-CoV-2. 2021. Diakses dari <https://www.who.int/news/item/20-01-2021-who-information-notice-for-ivd-users-2020-05>

Jakarta, 3 Mei 2021 jam 20.00

**Ketua Umum**



**Prof. DR. Dr. Aryati, MS., Sp.PK(K)**

**Sekjen**

**Dr. Marina Ludong., Sp.PK**