

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uji Saring IMLTD

Uji saring Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD) merupakan upaya untuk meminimalisir penularan penyakit IMLTD dari darah donor ke penerima selama proses transfusi darah. Oleh karena itu, uji saring IMLTD harus dilakukan dengan benar karena mempengaruhi kualitas mutu darah. Ada empat parameter penyakit yang wajib diperiksa sebelum proses transfusi darah yaitu HIV, Hepatitis B, Hepatitis C, dan Sifilis. Penyakit IMLTD lainnya seperti malaria akan diperiksa tergantung pada wilayah endemisnya. Uji saring IMLTD merupakan bagian dari pemeriksaan wajib. Prinsip pemeriksaan wajib adalah semua komponen darah yang dikirimkan ke rumah sakit untuk keperluan transfusi harus dilakukan pemeriksaan golongan darah dan diuji saring terhadap IMLTD.

Kegiatan uji saring IMLTD mempunyai peran yang sangat penting dalam keamanan darah, sehingga pelaksanaannya harus sesuai dengan prinsip dan standar yang telah ditetapkan berdasarkan peraturan perundang-undangan yang berlaku. Saat ini metode pemeriksaan uji saring darah yang berbeda telah dikembangkan dan diterapkan untuk setiap unit layanan darah, sehingga perlu dikembangkan prinsip dan standar uji saring IMLTD dengan berbagai metode untuk dijadikan pedoman bagi setiap unit pelayanan darah. Metode uji saring IMLTD yang telah dikembangkan dan diterapkan secara nasional adalah metode imunokromatografi atau sering kita sebut dengan metode rapid test, metode *Enzyme Linked immunosorbent Assay* (ELISA) atau sering disebut juga dengan *Enzyme Immuno Assay* (EIA), metode *Chemilluminescence Immuno Assay* (CHLIA), dan metode

yang saat ini sedang dikembangkan adalah deteksi asam nukleat dari agen infeksi yaitu metode *Nucleic Acid Amplification Testing* (NAT). (Permenkes 91, 2015)

Penyakit menular transfusi merupakan masalah utama dalam transfusi darah. IMLTD berperan penting dalam menjamin kualitas dan keamanan darah donor. Pertimbangan yang tepat dan hasil yang akurat dapat membantu meminimalkan reaksi transfusi dan memantau pemenuhan kebutuhan darah setempat. Prevalensi IMLTD sangat bervariasi antar negara. Prevalensi IMLTD masih tergolong tinggi khususnya di Indonesia, tingginya prevalensi tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah asal darah donor. Ada banyak cara untuk mengurangi risiko penularan penyakit IMLTD dari donor ke donor, antara lain:

- a. Semua darah donor harus menjalani skrining IMLTD tanpa terkecuali.
- b. Uji saring penyakit infeksi menular lewat transfusi (IMLTD) berikut harus ditinjau:
 1. HIV: kombinasi antigen-antibodi HIV atau skrining antibodi HIV.
 2. Hepatitis B: Juga dikenal sebagai skrining antigen permukaan hepatitis B (HbsAg).
 3. Hepatitis C: Disebut juga HCV, melakukan skrining terhadap antigen-antibodi HCV atau kombinasi HCV-antibodi.
 4. Sifilis (*Treponema pallidum*): Skrining antibodi terhadap infeksi bakteri jenis *Treponema pallidum*.
- c. Uji saring IMLTD lain, seperti malaria dilakukan di wilayah tertentu (daerah endemis) dan harus berdasarkan bukti epidemiologi di wilayah tersebut.

- d. Uji saring IMLTD harus dilakukan dengan menggunakan pemeriksaan yang sangat sensitif dan spesifik untuk mencapai tingkat akurasi yang tinggi.
- e. Kualitas uji saring harus menjamin semua darah donor dengan menggunakan metode serologi sebelum menggunakan teknologi uji DNA atau asam nukleat (NAT).
- f. Darah yang reaktif harus dimusnahkan dan dibuang dari darah karantina.
- g. Semua kantong darah yang dinyatakan reaktif harus diberi label dan dihilangkan dari stok karantina serta disimpan secara terpisah dengan aman sampai kantong darah yang reaktif tersebut dibuang atau disimpan untuk tujuan jaminan kualitas mutu darah. (Maharani, E. A. and Noviar, 2018)

2.2 Prevalensi Penyakit IMLTD

2.2.1 Prevalensi Immunodeficiency Virus (HIV)

Perkiraan angka infeksi HIV hingga saat ini di Indonesia tersebar di 386 kabupaten/kota di seluruh provinsi Indonesia. Pemerintah telah berkoordinasi dengan banyak organisasi dalam dan luar negeri untuk melakukan berbagai upaya mitigasi. Jumlah infeksi HIV meningkat setiap tahunnya sejak pertama kali dilaporkan pada tahun 1987. Jumlah infeksi HIV cenderung meningkat secara perlahan, dan pada tahun 2012 jumlah infeksi HIV mulai menurun. Jumlah kumulatif orang yang tertular HIV sejak tahun 1987 hingga September 2014 sebanyak 150.296 orang, sedangkan jumlah kumulatif kasus AIDS sebanyak 55.799 orang. Menurut laporan provinsi, jumlah kumulatif infeksi HIV tertinggi yang dilaporkan sejak tahun 1987 hingga September 2014 tercatat di provinsi DKI Jakarta (32.782 kasus). Sepuluh (10) kasus HIV terbanyak adalah Provinsi DKI Jakarta, Jawa Timur, Papua, Jawa Barat, Bali, Sumatera Utara, Jawa Tengah,

Kalimantan Barat, Kepulauan Riau, dan Sulawesi Selatan. Jumlah infeksi HIV yang dilaporkan per provinsi pada tahun 1987 hingga September 2014 Angka kejadian AIDS di Indonesia berdasarkan kelompok umur yang dilaporkan pada tahun 1987 hingga September 2014, tertinggi terjadi pada kelompok umur 20 tahun hingga 29 tahun, diikuti kelompok umur 30 hingga 39 tahun. berusia tahun dan 40 hingga 49 tahun. Berdasarkan gender, infeksi HIV di Indonesia lebih sering terjadi pada laki-laki (54%), hampir dua kali lebih sering terjadi pada perempuan (29%). Tergantung pada jenis pekerjaannya, sebagian besar pengidap HIV di Indonesia adalah ibu rumah tangga, diikuti oleh wiraswasta dan pekerja non-profesional (karyawan). Berdasarkan kelompok risiko, infeksi HIV di Indonesia terbanyak terjadi pada kelompok heteroseksual (61,5%), pengguna narkoba suntik (penasun) sebanyak 15,2% dan homoseksual (2,4%) serta faktor risiko yang tidak diketahui sebanyak 17,1%. (Pelayanan, 2019)

Jumlah Kasus HIV Positif dan AIDS Yang Dilaporkan di Indonesia Pada Tahun 1987 Sampai Dengan 2014



Gambar 2.1 Jumlah Kasus HIV dan AIDS yang dilaporkan di Indonesia Tahun 1987 sampai dengan September 2014

Sumber : (Pelayanan, 2019)

2.2.2 Prevalensi Hepatitis B

Virus hepatitis B diperkirakan telah menginfeksi lebih dari dua miliar orang sepanjang hidupnya. Diperkirakan sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi HBV dan sekitar 400 juta orang mengidap penyakit ini secara kronis, sedangkan prevalensi di Indonesia antara berkisar 3-17%, dengan sampel 10.391 orang menunjukkan presentase positif HBsAg sebesar 9,4%. Angka kejadian hepatitis B tertinggi terdapat pada kelompok umur 45-49 tahun (11,92%), >60 tahun (10,57%) dan umur 10-14 tahun (10,02%), kemudian HBsAg terbanyak positif baik pada pria maupun wanita hampir sama (9,7% hingga 9,3%). Diperkirakan 257 juta orang hidup dengan infeksi virus hepatitis B. Pada tahun 2015, hepatitis B menyebabkan 887.000 kematian, terutama akibat komplikasi (termasuk sirosis dan kanker hati). Berdasarkan riset kesehatan dasar yang dilakukan pada tahun 2013, prevalensi hepatitis B di Indonesia sebesar 21,8% dengan prevalensi tertinggi di Bangka Belitung (48,2%). Hal ini menunjukkan satu dari sepuluh penduduk Indonesia terinfeksi virus hepatitis B. (Maharani, E. A. and Noviar, 2018)

2.2.3 Prevalensi Hepatitis C

Berdasarkan laporan data Nurminha tahun 2016, WHO (Organisasi Kesehatan Dunia) menyebutkan virus hepatitis C ditularkan melalui darah yang terkontaminasi sehingga menyebabkan kematian 350.000 orang di seluruh dunia setiap tahunnya. Terdapat sekitar 2 hingga 4,7 juta infeksi baru setiap tahunnya di antara 170 juta orang yang telah terinfeksi HCV (5.7%). Bahwa virus hepatitis C terdapat di seluruh dunia dan menyerang semua kalangan masyarakat. Menurut data WHO, angka infeksi virus hepatitis C di Indonesia berkisar antara 1 hingga

2,4%. Diperkirakan sekitar 5 hingga 7,5 juta penduduk Indonesia terkena infeksi HCV kronis. Penularan HCV lebih sering terjadi dibandingkan dengan produk darah lainnya. Faktor risiko ketiga di Indonesia adalah transfusi darah. Sementara itu, angka penyalahgunaan narkoba suntik di Jakarta mencapai 70%. (Kesehatanet al., 2016)

Virus hepatitis C menyebabkan infeksi akut dan kronis. Infeksi HCV baru biasanya tanpa gejala. Sekitar 30% (15–45%) orang yang terinfeksi secara spontan membersihkan virus dalam waktu 6 bulan setelah infeksi tanpa pengobatan. 70% sisanya (55-85%) orang akan mengembangkan infeksi HCV kronis. Di antara mereka dengan infeksi HCV kronis, risiko sirosis berkisar antara 15% dan 30% dalam kurun waktu 20 tahun. Di wilayah Asia Tenggara diperkirakan 30 juta orang hidup dengan hepatitis C kronis, setiap tahun di wilayah tersebut hampir sebagian masyarakat-nya terpapar virus hepatitis C menyebabkan sekitar 500.000 kasus baru dan 160.000 kematian.(Kesehatan et al., 2016)

2.2.4 Prevalensi Sifilis

Sifilis adalah penyakit sistemik kronis yang disebabkan oleh *Treponema pallidum*. Angka kejadian sifilis mencapai 90% di negara-negara berkembang. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan 12 juta kasus baru terjadi di Afrika, Asia Selatan, Asia Tenggara, Amerika Latin, dan Karibia. Angka kejadian sifilis di Indonesia berdasarkan laporan Survei Komprehensif dan Perilaku Biologis (STBP) Kementerian Kesehatan RI tahun 2011. Angka kejadian sifilis pada tahun 2011 meningkat dibandingkan tahun 2007. (Maharani, E. A. and Noviar, 2018)

Kementerian Kesehatan (Kemenkes) melaporkan angka penyakit sifilis di Indonesia masih cukup tinggi, jumlah kasus penyakit sifilis atau penyakit raja singa di Indonesia mencapai 20.783 kasus pada tahun 2022. Jumlah tersebut meningkat 70% per tahun dibandingkan tahun 2018 sebanyak 12.484 kasus. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Treponema pallidum* yang diakibatkan oleh perilaku seksual yang tidak normal, seperti seks oral dan anal. Tergantung pada kelompok umur, pasien sifilis sebagian besar berusia antara usia 25 - 49 tahun, dengan angka 63%. Kemudian kelompok usia 20-24 tahun sebesar 23% dan kelompok usia 15-19 tahun sebesar 6%. Kemudian, 5% penderitanya berusia di atas 50 tahun. Sebaliknya, sifilis juga banyak ditemukan pada anak-anak, yakni 3% pada usia di bawah 4 tahun dan 0,24% pada usia 5 hingga 15 tahun. Berdasarkan jenis kelamin, penderita sifilis terbanyak adalah laki-laki sebesar 54%, sedangkan perempuan sebesar 46%. Berdasarkan wilayah, inilah 8 provinsi dengan kasus sifilis terbanyak di Indonesia pada 2022:

1. Papua

Papua merupakan provinsi dengan kasus pasien sifilis terbanyak di Indonesia yaitu sebanyak 3.864 kasus positif dari 34.625 orang yang diperiksa. Dari angka penemuan tersebut, sebanyak 2.373 di antaranya mendapatkan pengobatan.

2. Jawa Barat

Jawa Barat menempati peringkat kedua kasus sifilis terbanyak nasional yaitu 3.186 kasus positif sifilis dari 305.816 orang yang diperiksa. Meski demikian, baru ada 1.500 kasus positif yang mendapatkan pengobatan.

3. DKI Jakarta

DKI Jakarta tercatat memiliki 1.897 kasus sifilis dari total 71.037 jumlah skrining. Dari jumlah tersebut, hanya 1.343 kasus yang menjalani pengobatan.

4. Papua Barat

Di peringkat keempat ada Papua Barat dengan 1.816 kasus positif sifilis dari total 9.659 jumlah skrining yang dilakukan. Tercatat, jumlah kasus yang diobati hanya 940 kasus.

5. Bali

Pulau Dewata tercatat memiliki 1.300 kasus sifilis yang ditemukan dari 53.876 orang yang menjalani tes sifilis di Bali. Sebanyak 1.040 di antaranya telah mendapatkan pengobatan.

6. Banten

Banten memiliki kasus sifilis sebanyak 1.145 kasus dari total 63.451 orang yang dites. Dari jumlah tersebut, sebanyak 1.088 kasus telah diobati.

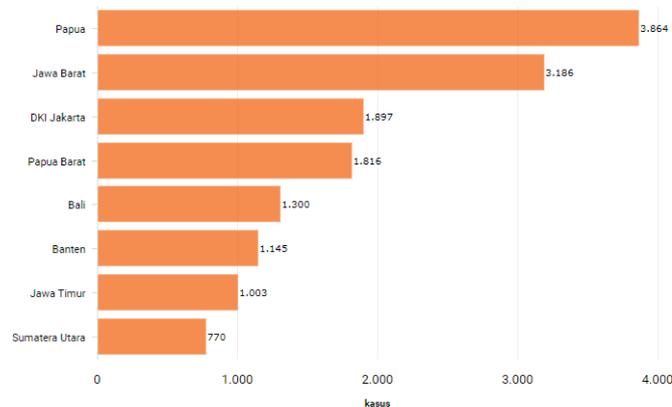
7. Jawa Timur

Sebanyak 1.003 kasus sifilis ditemukan di Jawa Timur dari total skrining sifilis yang dilakukan sebanyak 273.479 orang. Dari kasus positif tersebut, sebanyak 884 kasus tercatat diobati.

8. Sumatera Utara

Sumatra Utara merupakan satu-satunya provinsi yang masuk delapan besar kasus sifilis terbanyak nasional. Tercatat, ada 770 kasus sifilis dari 48.922 total skrining yang dilakukan. Sebanyak 542 di antaranya telah mendapatkan pengobatan.

Jumlah Data 8 Provinsi di Indonesia Dengan Kasus Sifilis Terbanyak Pada Tahun 2022



Gambar 2.2 Prevalensi Kasus Sifilis Terbanyak Pada Tahun 2022
Sumber : (Kemenkes RI, 2022)

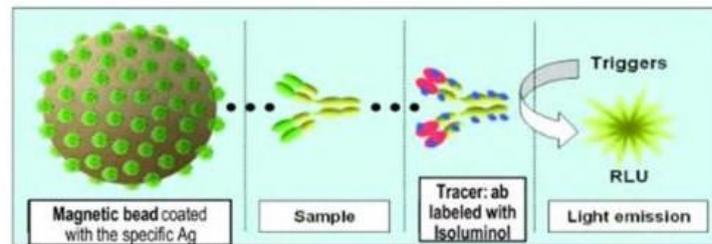
2.3 Prinsip Uji Saring IMLTD

2.3.1 Prinsip Uji Saring IMLTD Metode CHLIA

CHLIA merupakan teknik immunoassay untuk mendeteksi keberadaan antigen/antibodi agen infeksi dimana label, indikator reaksi analitiknya, adalah molekul luminescent. Energi potensial yang dihasilkan dalam atom akan dilepaskan dalam bentuk cahaya. Saat ini tes skrining darah dengan metode CHLIA dianggap lebih sensitif dibandingkan ELISA. Keuntungan CHLIA untuk deteksi spektrofotometri adalah pendarannya lebih besar daripada serapannya karena ukuran absolut dan relatifnya.

Prinsip metode CHLIA dimana pembawa antigen atau antibodi pada pemeriksaan CHLIA adalah mikropartikel magnetik. Setelah ditambahkan sampel maka akan terbentuk ikatan antigen dan antibodi. Dengan adanya mikropartikel magnetik maka akan terbentuk ikatan antigen dan antibodi yang tidak mudah dipisahkan dengan pencucian. Selain itu, dengan menambahkan larutan chemiluminescent, kompleks reaksi antigen dan antibodi dapat dideteksi melalui

emisi cahaya yang dihasilkan. Besar kecilnya emisi cahaya secara kuantitatif mewakili besar kecilnya tingkat antigen atau antibodi yang ada dalam sampel.



Gambar 2.3 Prinsip Kerja Uji Saring Antigen / Antibody IMLTD Dengan Metode CHLIA

Sumber : (Francisca, R.S.S, 2019)

Kalibrator CHLIA menggunakan larutan yang nilainya diketahui untuk membuat hubungan antara jumlah sinyal yang dihasilkan dalam pengujian dan konsentrasi analit. Biasanya berupa satu set kalibrator. Keunggulan CHLIA menggunakan “mikropartikel magnetik” berbentuk bola sebagai pembawa antigen dan/atau antibodi, luas permukaannya lebih besar sehingga jumlah antibodi/antigen yang dibawa lebih banyak.

Keuntungan CHLIA adalah menggunakan substrat yang sangat aktif yang lebih stabil dan memberikan keluaran cahaya yang lebih tinggi, sehingga menghasilkan jumlah cahaya yang lebih besar yang lebih mudah diukur dan karenanya lebih sensitif.

2.3.2 Prinsip Uji Saring IMLTD Metode NAT

Prinsip dari uji saring IMLTD adalah metode *Nucleic Acid Amplification Test* (NAT), yaitu serangkaian tes untuk mendeteksi keberadaan asam nukleat dari agen infeksi yang ditularkan melalui darah seperti virus HIV, hepatitis B, virus hepatitis dan C, Sifilis menyebabkan sindrom imunodefisiensi didapat (AIDS). Asam nukleat adalah makromolekul biokimia kompleks dengan berat molekul

tinggi yang tersusun atas rantai nukleotida yang mengandung informasi genetik (materi genetik) sebagai ciri atau tanda suatu zat. Asam nukleat yang paling umum adalah asam deoksiribonukleat (DNA) dan asam ribonukleat (RNA). Asam nukleat ditemukan di inti sel, sedangkan sel darah mempunyai inti sel darah putih, sehingga sampel darah donor yang digunakan untuk deteksi adalah serum atau plasma, tempat dimana biasanya terdapat sel darah putih. Deteksi asam nukleat dari agen IMLTD merupakan salah satu teknik deteksi teknologi terkini karena asam nukleat merupakan penanda genetik atau penanda spesifik spesies. Dampak dari penggunaan tes skrining dengan metode ini adalah keamanan darah meningkat karena DNA/RNA dapat terdeteksi jauh sebelum antigen atau antibodi terdeteksi pada sampel darah yang terinfeksi. Artinya deteksi asam nukleat berpotensi mendeteksi infeksi tahap awal atau *window period* (WP). *Window period* adalah masa ketika agen infeksius masuk ke dalam tubuh namun tubuh tidak bereaksi atau tidak membentuk antibodi sehingga hasil tes serologisnya negatif.

Teknik deteksi asam nukleat bermacam-macam, diantaranya adalah Polymerase Chain Reaction (PCR) dan Nucleic Acid Amplification Testing (NAT). NAT yang beredar saat ini, menggunakan metode Transcription Mediated Amplification (TMA). Untuk kepentingan uji saring darah donor, metoda NAT yang sensitif telah dikembangkan dengan platform semiotomatik ataupun otomatis sehingga lebih mudah untuk diterapkan pada sejumlah besar sampel darah donor, dan seringkali dengan format multiplex yang secara simultan mampu mendeteksi RNA-HCV, RNA HIV dan DNA-HBV, pada sample mini-pool (MP-NAT) atau sampel individual (ID-NAT).

2.4 Pemeriksaan Uji Saring IMLTD

2.4.1 Pemeriksaan IMLTD Metode CHLIA

Metode CLHIA (Chemiluminescence Immuno Assay) yaitu Metode yang digunakan untuk Mendeteksi antigen/antibodi dalam darah donor secara otomatis dalam waktu lebih cepat, serta sentivitas dan spesifitasnya lebih tinggi dibandingkan teknologi immuno assay lain. Penggunaan Metode CLIA dengan substrat chemiluminescent yang dicampur dengan berbagai enzim akan menghasilkan cahaya yang akan menerapkan imun kompleks. Adapun langkah langkah penggunaan Metode CLIA sebagai berikut :

1. Persiapan Bahan

1. Biarkan reagensia yang akan diperiksa pada suhu kamar sebelum digunakan Dan kembalikan reagensia yang sudah digunakan ke tempat penyimpanan.
2. Nyalakan Architect,tunggu hingga status offline, kemudian nyalakan alat,tunggu sampai muncul stop.dan klik start up.
3. Setelah terlihat ready cek inventory/supplys (*reaction vessel, waste, trigger, pre-trigger*) dengan cara sentuh supplys. Isi inventory apabila jumlahnya berkurang.

2. Persiapan Sampel

1. Sampel yang digunakan yaitu serum atau plasma yang bebas dari kontaminasi bakteri.
2. Beri label (nomor kantong darah) pada setiap tabung sampel yang akan diperiksa.

3. Volume sampel untuk pemeriksaan Architect menggunakan tabung 12x75 mm sebanyak 2/3 dari tabung.
 4. Lakukan *daily maintenance* dengan memasukkan reagen dahulu, kemudian pilih *maintenance* yang *daily* kemudian tekan *proceed* dan seterusnya sampai running hingga proses selesai dikerjakan.
 5. Ambil reagen, ganti dengan reagen (HBsAg, HCV, HIV, Sifilis/sesuai yang akan diperiksa) lalu Scan semua reagent. Pastikan status reagent OK/active.
3. Proses Pemakaian
1. Pilih order kontrol dari menu utama. Isi kontrol negatif dan kontrol positif (HBsAg, anti hcv, anti hiv, sifilis) sesuai volume yang diminta. kemudian tekan add.
 2. Ketik pasien isi sesuai dengan urutan setelah pemberian kontrol kemudian isi sid sesuai dengan nomer sample misal: a 234 , masukkan sample pada sample segmen. kemudian pilih parameter yang diminta. tekan add. jika volume sample kurang dapat memakai sample cup. periksa kembali jika ada gelembung segera hilangkan. tekan add. tempatkan sample segmen pada sample carousel.
 3. Pilih exit atau kembali ke menu utama, jika semua sampel pasien telah di programkan. Jika perlu, orderlist dapat dicetak dengan menekan print pada orderlist screen. semua pemeriksaan dapat dilihat pada order status.
 4. Periksa kembali inventory pada supply pastikan sudah terisi semua. Tekan run, Tunggu sambil memeriksa order status, jika semua pemeriksaan telah complete. cek di result, select all semua hasil dan print.

5. Setelah print hasil select all kembali hasil dan tekan release agar hasil pemeriksaan tersimpan pada stored result. Kembalikan reagen ke dalam tempatnya dan ditaruh di refrigerator kembali
6. Ambil semua sample pada sample segmen. Jika ada yang exception ulangi pemeriksaan. pastikan pemeriksaan selesai semua, di order status.
7. Kembalikan status pada screen dalam keadaan ready/stop. Lakukan shutdown alat.

2.4.2 Pemeriksaan IMLTD Metode NAT

Nucleic Acid Testing (NAT) adalah teknologi yang mendeteksi keberadaan asam nukleat virus, DNA atau RNA, dan digunakan untuk menyaring darah donor. Dalam teknologi ini, fragmen DNA/RNA tertentu ditargetkan dan diamplifikasi secara *in vitro*. Langkah amplifikasi meningkatkan jumlah DNA/RNA titer rendah spesifik dalam sampel hingga titer terdeteksi tercapai. Dampak dari penggunaan tes uji saring dengan metode ini adalah keamanan darah meningkat karena DNA/RNA dapat terdeteksi jauh sebelum antigen atau antibodi terdeteksi pada sampel darah yang terinfeksi. Artinya, deteksi asam nukleat dapat dilakukan pada tahap awal infeksi atau selama masa jendela (WP). Masa jendela atau window period adalah masa ketika agen infeksius masuk ke dalam tubuh namun tubuh tidak bereaksi atau tidak membentuk antibodi sehingga hasil tes serologisnya negatif.

1. Peralatan dan Bahan

Peralatan NAT menggunakan teknologi amplifikasi asam nukleat. Teknik amplifikasi mempunyai kemampuan untuk mencetak dan dapat mecopy asam

nukleat hingga berjuta-juta cetakan sehingga asam nukleat dalam titer rendah pun dapat dideteksi. Tahapan pada teknik amplifikasi terdiri dari 3 tahap yaitu

1. tahap preamplifikasi biasanya meliputi persiapan sampel dan ekstraksi asam nukleat.
2. tahap amplifikasi terdiri dari amplifikasi sekuen asam nukleat atau amplifikasi signal.
3. tahap akhir, yaitu deteksi dan atau kuantifikasi produk amplifikasi.

Kebanyakan alat amplifikasi yang diperlukan untuk metode ini menggunakan format microplate yang dicocokkan dengan alat pipet otomatis.

1. Alat

Peralatan NAT yang telah diaplikasikan di beberapa negara termasuk Indonesia adalah *Novartis Procleix Ultrio Assay Tigris System*. *Procleix Ultrio Assay* adalah sistem uji asam nukleat kualitatif secara in vitro guna menyaring keberadaan RNA *Human Immunodeficiency Virus* tipe I (HIV-1), RNA Virus Hepatitis C (HCV, dan DNA Virus Hepatitis B (HBV) di dalam plasma atau serum pendonor darah secara individual. Peralatan ini dioperasikan secara full otomatis.

2. Reagensia

Reagensia yang dipergunakan adalah *Procleix Ultrio Plus Assay*. Reagensia dan perlengkapannya terdiri atas *assay reagents*, *assay fluids*, *control*, dan *calibrators*, *consumables*, dan peralatan disposable lainnya. *Assay reagents* terdiri dari *Target Capture Reagent* (TCR), *Target Enhacer Reagent* (TER), *internal control*, *amplification*, *enzyme*, *probe*, *diskriminatory probe*, dan

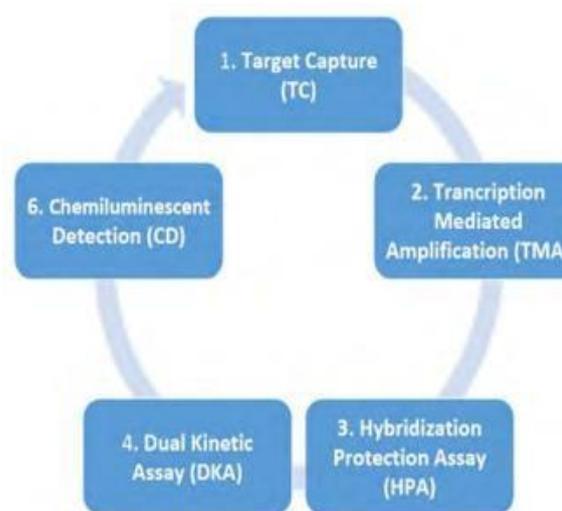
selection. Assay fluids terdiri dari wash solution, oil, deactivation buffer, autodetect, autodetect, dan system fluid preservative. Consumables terdiri dari MTUs (Multi Tube Unit) dan DiTis (Disposable Tips). Perlengkapan disposable lainnya adalah waste deffector, waste cover, MTU waste bag, dan triplet waste bag. Semua reagensia disiapkan di dalam sebuah alat yang disebut reagent preparation incubator (RPI).

3. Sampel Pemeriksaan

Hal penting dalam metode molekuler adalah memiliki sampel yang tepat dan diproses dengan cara yang tepat. Sampel yang baik yaitu sampel yang menggunakan antikoagulan EDTA. Penerimaan, persiapan sampel harus mengacu kepada prosedur persiapan sampel. Pemeriksaan biasanya harus dilaksanakan dalam waktu 6 jam dari pengambilan darah, walaupun beberapa metode merekomendasikan 4 jam. Jika sampel tidak segera diperiksa, dapat disimpan dalam kondisi beku pada suhu minus 20°C atau pada suhu yang lebih dingin sehingga mampu bertahan selama bertahun-tahun. Titer DNA/RNA virus biasanya stabil selama paling tidak lima tahun, jika sampel menggunakan EDTA dan disimpan pada suhu minus 7°C. Sampel yang disimpan beku dilakukan thawing terlebih dahulu sebelum dipergunakan. Guna menjaga titer DNA/ RNA tetap stabil, maka direkomendasikan agar thawing dilakukan seminimal mungkin.

2. Prosedur Pemeriksaan

Teknologi NAT dapat diterapkan pada donasi individu (ID = individual donation/donasi individu) atau donasi kelompok mini (MP = mini pool donation /donasi kelompok mini). Adanya kemajuan teknologi, NAT yang menargetkan beberapa asam nukleat virus telah mampu dikembangkan menjadi NAT multisaluran, yang mampu mendeteksi keberadaan DNA atau RNA beberapa virus secara bersamaan. Untuk keperluan uji saring darah donor, telah dikembangkan metode NAT yang sensitif dengan platform semi-otomatis atau otomatis untuk memudahkan penerapannya pada sampel darah donor dalam jumlah besar. Selain itu, biasanya juga berupa format multipleks yang mampu mendeteksi HCV-RNA, HIV RNA, dan HBV-DNA secara bersamaan dalam sampel subkelompok (MPNAT) atau sampel individu (ID-NAT). Urutan lengkap pendeteksian dengan NAT mencakup serangkaian prosedur seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.4 di bawah ini.



Gambar 2.4 Alur Proses Pemeriksaan NAT
Sumber : (Francisca, R.S.S, 2019)

a. *Target Capture (TC)*

Pada tahap target capture (TC), sampel dipanaskan hingga suhu tertentu sesuai hasil optimasi yang ditentukan pabrik. Tujuan dari pemanasan ini adalah untuk melisiskan sel virus. Saat dipanaskan, selubung sel akan pecah dan DNA atau RNA akan mengalir keluar sel. DNA/RNA tersebut kemudian ditangkap oleh target penangkapan atau disebut probe (Internal Control) yang dibawa oleh mikropartikel magnetik yang ditambahkan agar tidak terbang pada saat proses pencucian. Pencucian dimaksudkan untuk menghilangkan bahan non spesifik dan meminimalkan inhibitor atau zat yang menghambat atau menurunkan laju reaksi kimia.

b. *Transcription Mediated Amplification (TMA)*

Amplifikasi yang dimediasi transkripsi (TMA) adalah metode amplifikasi asam nukleat menggunakan tabung tunggal. Metode ini dikembangkan oleh Hologic berupa solusi Prolex NAT untuk mendeteksi keberadaan virus dengan proses sederhana yang tidak memerlukan banyak waktu. Uniknya tabung yang disebutkan di sini adalah dalam satu tabung bisa dideteksi beberapa virus sekaligus, misalnya HIV RNA, HCV RNA, dan HBV DNA. Pada tahap TMA, ketika primer amplifikasi, *enzim Reverse Transcriptase (RT)* dan RNA polimerase bereaksi secara *in vitro*, akan terjadi amplifikasi dan menghasilkan jutaan salinan RNA yang disebut amplikon. Dengan metode TMA ini, prosedur deteksi DNA menjadi lebih sederhana dan hasil dapat diperoleh dengan cepat.

c. *Hybridization Protection Assay (HPA)*

Pada tahap ini, amplikon HPA yang diperkuat diberi label dengan cara menghibridisasinya dengan probe yang mengandung penanda *Acrydium Ester*

(AE). AE merupakan zat *chemiluminescent* yang dapat memancarkan cahaya. Selanjutnya dilakukan deteksi antara amplikon berlabel dan tidak berlabel dengan menambahkan reagen hidrolisis. Pada saat itu, AE pada amplifikasi hybrid akan terlindungi dalam struktur double helix DNA, sehingga proses hidrolisis berlangsung dan waktu pendarnya lebih lama.

d. *Dual Kinetic Assay* (DKA)

Pada tahap DKA ini dilakukan pengukuran *Relative Light Unit* (RLU) antara kontrol internal dengan sampel. Teknologi DNA memungkinkan deteksi simultan dari kedua RNA yang dikodekan oleh kontrol internal dengan menghasilkan kilatan atau emisi cahaya. Selanjutnya, RNA yang dikodekan oleh virus menghasilkan cahaya yang lebih tahan lama.

e. *Chemiluminescent Detection* (CD)

Detection chemiluminescence merupakan pengukuran satuan cahaya relatif (RLU) pada tahap DKA. Signal Flasher adalah tag probe IC khusus yang mampu memancarkan cahaya dengan cepat. Sinyal Glower adalah tag probe khusus virus yang memancarkan cahaya secara perlahan. (Francisca, R.S.S, 2019)

3. Interpretasi Hasil Pemeriksaan NAT

Hasil pemeriksaan NAT dapat diinterpretasikan apabila misal RLU positif atau bahkan tinggi maka dapat disimpulkan bahwa dalam sampel terdapat amplikon yang terhibridisasi. Pada kondisi tersebut berarti mengandung asam nukleat atau DNA sehingga darah tidak akan ditransfusikan, apabila didalam sampel tidak terdapat amplikon terhibridisasi, maka tidak mengandung asam nukleat atau DNA sehingga darah dapat ditransfusikan. (Francisca, R.S.S, 2019)