



APAKAH ARTI KLINIS NILAI *Cycle Threshold* (Ct) PADA HASIL PEMERIKSAAN *real time* RT-PCR?

Menanggapi permintaan klinisi kepada laboratorium pemeriksa PCR untuk menyantumkan nilai Ct pada hasil pemeriksaan PCR COVID-19 serta nilai Ct menjadi salah satu kriteria pemulangan pasien dari perawatan di rumah sakit, maka PAMKI menyampaikan penjelasan sebagai berikut:

1. Pemeriksaan molekuler dengan metode *real time reverse transcriptase polymerase chain reaction* atau yang selanjutnya disebut sebagai *real time* RT-PCR, pada saat ini digunakan sebagai metode untuk mendeteksi SARS-CoV2 penyebab COVID-19. Gen spesifik SARS-CoV2 yang dideteksi adalah ORF 1a/b, E, RdRp, dan gen N. *Primers* yang digunakan dalam reaksi PCR pada umumnya mendeteksi 2 diantara 4 gen tersebut dengan tujuan untuk mencegah adanya potensi reaksi silang dengan virus Corona lainnya dan *genetic drift* SARS-CoV2. Pemeriksaan PCR pada swab nasofaring dan orofaring memiliki spesifisitas yang tinggi dan sensitifitas yang tergantung pada beberapa hal, yaitu *viral load*; metode isolasi atau ekstraksi RNA yang digunakan; dan waktu pengambilan swab yang tergantung pada fase penyakit yang dialami pasien.¹
2. Hasil pemeriksaan *real time* PCR dinyatakan positif bila terdapat akumulasi sinyal fluoresens. Nilai *cycle threshold* atau Ct adalah jumlah siklus yang dibutuhkan sampai sinyal fluoresens melewati ambang (*threshold*). Nilai Ct tersebut secara proporsional berbanding terbalik dengan jumlah target asam nukleat didalam sampel, artinya semakin rendah nilai Ct maka semakin banyak jumlah asam nukleat yang terdeteksi didalam sampel. Pada umumnya batas ambang nilai Ct adalah 40 dengan interpretasi:
 - Nilai Ct <29: positif kuat, terdapat target asam nukleat dalam jumlah banyak
 - Nilai Ct antara 30-37: positif, terdapat target asam nukleat dalam jumlah sedang
 - Nilai Ct antara 38-40: positif lemah, terdapat target asam nukleat dalam jumlah sedikit dan terdapat kemungkinan kontaminasi dari lingkungan

Namun demikian, beberapa kit reagen menyantumkan batas ambang nilai Ct yang berbeda, yaitu 35, 36, 38, ataupun 41, sehingga interpretasi harus disesuaikan dengan penjelasan yang disertakan dalam kit reagen yang digunakan.

3. Beberapa studi telah membuktikan terdapatnya variasi dalam hubungan antara infektivitas pasien dengan *viral load* yang diperoleh dari hasil kultur virus dan nilai Ct *real time* RT-PCR, diantaranya:
 - Bullard, J. et al (2020) melakukan penelitian tentang infektivitas SARS-CoV2 pada pasien berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologi dengan membandingkan antara kultur virus dan *real time* RT-PCR menggunakan spesimen nasofaring atau sekret saluran napas bawah. Kesimpulan penelitian tersebut menyatakan bahwa pasien tidak infeksius lagi (ditandai dengan hasil kultur virus negatif) pada hasil *real time* PCR deteksi gen E dengan nilai Ct \geq 24



- dan *symptoms to test* (STT) atau jumlah hari sejak timbulnya gejala sampai saat pengambilan spesimen) ≥ 8 hari.²
- La Scola (2020) melakukan evaluasi pada 129 sampel dengan nilai Ct 13-17 menunjukkan 100% positif pada kultur laboratorium dan menurun sampai angka “tidak terdeteksi pada kultur virus” pada saat nilai Ct ≥ 34 dan terdapat 12% sampel dengan Ct 33 yang menunjukkan kultur virus positif.³
 - Bordon et al (2020) dalam sebuah studi pada tenaga kesehatan melaporkan bahwa pada hari ke-29 sejak hasil PCR positif, dengan nilai Ct 38, dinyatakan sudah tidak menular lagi.⁴
 - Wolfel et al (2020) menunjukkan bahwa kultur virus menunjukkan hasil positif pada sampel swab yang mengandung sedikitnya 10^6 /ml cairan dari sampel swab, namun tidak diketahui kemampuan penularannya.⁵
4. Tinggi atau rendahnya nilai Ct sangat bergantung pada teknis pengerjaan, jumlah RNA didalam sampel, metode pengambilan sampel, metode ekstraksi RNA yang digunakan, reagen dan primer yang digunakan dalam reaksi PCR. Perlu diperhatikan juga bahwa pada saat ini ketersediaan reagen yang bervariasi dan tidak adanya standarisasi antar produk mempersulit pemanfaatan nilai Ct. Mempertimbangkan hal tersebut maka penggunaan nilai Ct untuk aplikasi klinis harus disertai hasil *viral load* dan viabilitas virus menggunakan metode kultur virus yang dikerjakan di laboratorium yang sama. Nilai Ct dapat dicantumkan pada hasil pemeriksaan disertai nilai rujukan berupa *range* atau konversi ke nilai *viral load* dan/atau dikelompokkan menjadi *viral load* rendah/medium/tinggi.⁶
5. Pada 17 Juni 2020, WHO mempublikasi *scientific brief* tentang kriteria pengakhiran masa isolasi seseorang dengan status konfirmasi COVID-19, yang merupakan revisi dari *scientific brief* sebelumnya yang telah dipublikasi pada 12 Januari 2020. Pada awalnya dijelaskan bahwa seseorang dengan status konfirmasi COVID-19 boleh dikeluarkan dari isolasi bila tidak lagi mengandung virus yang dinyatakan dengan hasil negatif pada 2x pemeriksaan PCR swab yang diambil berjarak minimal 24 jam. Pernyataan tersebut disusun berdasarkan pengalaman dalam menangani kasus infeksi virus Corona sebelumnya (SARS dan MERS).⁷

Berdasarkan beberapa pertimbangan berikut ini:

- hasil PCR positif pada beberapa individu yang cukup lama (*prolonged viral RNA detection*, meskipun sudah tidak ada tanda dan gejala;
- hasil PCR yang tidak konsisten (kadang positif lalu negatif dan positif lagi) pada individu yang sudah tidak menunjukkan adanya tanda dan gejala COVID-19 mengakibatkan ketidakpercayaan pada kualitas laboratorium pemeriksa;
- ketersediaan pemeriksaan PCR yang tidak mudah didapat di semua fasilitas pelayanan kesehatan,



maka ketentuan hasil negatif pada 2x pemeriksaan PCR swab direvisi. Selanjutnya dinyatakan bahwa kriteria pemulangan atau seseorang boleh keluar dari isolasi mandiri adalah sebagai berikut:⁴

- Pada pasien (dengan gejala): setelah 10 hari sejak onset gejala ditambah 3 hari bebas gejala (tanpa demam dan tanpa gejala saluran napas)
- Pada kasus tanpa gejala: 10 hari setelah hasil PCR SARS CoV2 dinyatakan positif

Berdasarkan penjelasan diatas maka disimpulkan sebagai berikut:

1. PCR adalah pemeriksaan yang mendeteksi materi genetik virus tanpa dapat menentukan virus dalam keadaan hidup atau mati, sedangkan kemampuan menginfeksi hanya dimiliki oleh virus yang hidup sehingga hasil PCR dengan atau tanpa nilai Ct tidak dapat memastikan pasien infeksius atau tidak.
2. Pemeriksaan kultur virus adalah satu-satunya pemeriksaan yang dapat menentukan virus dalam keadaan hidup dan bersifat infeksius.
3. Nilai Ct sangat diperlukan untuk menetapkan hasil pemeriksaan PCR positif dan negatif dengan nilai ambang sesuai ketentuan manual kit, sehingga nilai Ct cukup diketahui oleh dokter penanggungjawab laboratorium mikrobiologi untuk interpretasi hasil.
4. Nilai Ct ditentukan oleh beberapa faktor khususnya metode sampling, sehingga perlu kehati-hatian dalam menggunakannya pada tata-kelola pasien COVID-19.
5. Nilai Ct tidak perlu disebut pada lembar hasil pemeriksaan PCR, namun bila dibutuhkan sebagai pertimbangan pengambilan langkah tatalaksana dapat ditanyakan ke laboratorium pemeriksa.

Daftar Pustaka

1. Touma, Marlin. COVID-19: molecular diagnostics overview. Journal of Molecular Medicine. Springer. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01931-w>. 13 June 2020
2. Bullard, J, K.Dust, D.Funk, J.E.Strong, D.Alexander, L.Garnett, C.Boodman, A.Bello, A.Hedley, XZ.Schiffman, K.Doan, N.Bastien, Y.Li, P.G.Van Caesele, G.Poliquin. Predicting Infectious SARS CoV-2 from diagnostic samples. Clinical Infectious Diseases, ciaa638. DOI: 1.0.1093/cid/ciaa638. 22 May 2020
3. La Scola B, Le Bideau M, Andreani J, et al. [Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards](#) [published online April 27, 2020]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. doi:10.1007/s10096-020-03913-9
4. Bordon J, D. Chung, P. Krishnan, R. Carrico, and J. A. Ramirez. ULRI | <https://doi.org/10.18297/jri/vol4/iss1/54> [University of Louisville Journal of Respiratory Infections]



PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS MIKROBIOLOGI KLINIK INDONESIA
(INDONESIAN SOCIETY FOR CLINICAL MICROBIOLOGY)

PAMKI

5. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospital- ized patients with COVID-2019. Nature. 2020 May;581(7809):465–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x> PMID:32235945.
6. Tom, M.R., M.J. Mina. To Interpret the SARS-CoV-2 Test, Consider the Cycle Threshold Value. samples. Clinical Infectious Diseases, ciaa619. DOI: 1.0.1093/cid/ciaa619. 21 May 2020
7. WHO. Scientific brief: Criteria for releasing COVID-19 patients from isolation. 17 June 2020

Jakarta, 12 Agustus 2020

Ketua Umum Pengurus Pusat PAMKI

Prof.Dr.dr. Kuntaman, MS, Sp.MK(K)

