



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

**Masa Bakti 2018 – 2021**

**Penasehat**

Prof.Dr.Uzman Chatib Warsa,PhD.,Sp.MK(K)  
Prof.DRDr.Hendro Wahyono,MSc.,DTM&H,Sp.MK(K)  
Prof. DR.Dr. Sanarto Santoso, DTM&H., Sp.MK(K)  
Prof.Dr. Amin Soebandrio, PhD., Sp.MK(K)

**Ketua Umum**

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

**Ketua Bidang Organisasi dan Kelembagaan**

Dr. Teguh Sarry Hartono, Sp.MK

**Anggota :**

DR.Dr. Sunarjati Sudigdoadi, MS., Sp.MK(K)  
Dr.Raden Ludhang Pradipta Rizki,M.Biotech, Sp.MK  
Dr. Rinaldi Panjaitan, Sp.MK  
Dr. Rendra Brahmanti, Sp.MK(K)

**Ketua Bidang Riset dan Pengembangan**

Prof. Pratiwi Sudarmono, PhD., Sp.MK(K)

**Anggota :**

DR.Dr. Hera Nirwati, Mkes, Sp.MK  
Prof. DR.Dr. Ni Made Mertaniasih, MS.,Sp.MK(K)  
Prof.Dr.Maria Lucia Inge Lusida,M.Kes.PhD.,Sp.MK(K)

**Koordinator Bidang Publikasi dan Jurnal PAMKI**

DR. Dr. I Dewa Made Sukrama, M.Si., Sp.MK(K)

**Anggota :**

Dr. Eustachius Hagni Wardoyo, Sp.MK  
Dr. Ni Made Adi Tarini, Sp.MK(K)  
Dr. I Wayan Agus Gede Manik Saputra, Sp.MK

**Ketua Bidang Pengembangan Profesi dan Pelayanan Kesehatan**

DR. Dr. Budiman Bela, Sp.MK(K)

**Anggota :**

Dr. Dewi Anggraini, Sp.MK(K)  
Dr. Cahyarini, Sp.MK(K)  
Dr.Leli Saptawati,Sp.MK(K)

**Ketua Bidang Humas**

DR. Dr. Yeva Rosana, MS., Sp.MK(K)

**Anggota :**

Dr. Nelly Puspita, Sp.MK  
Dr. Enty Tjoa, Sp.MK(K)

**Sekretaris Jenderal**

Dr. Anis Karuniawati, PhD., Sp.MK(K)

**Wakil Sekretaris**

Dr. Deby Kusumaningrum, M.Si., Sp.MK

**Bendahara I**

Dr. Neneng Dewi Kurniati, Sp.MK

**Wakil Bendahara**

Dr. Ardiana Kusumaningrum, Sp.MK(K)

**Nomor : 005/SE/PP-PAMKI/VI/2021**

**Pemeriksaan Mikrobiologi pada Varian Baru SARS-CoV-2**

Mutasi adalah perubahan materi genetik dalam porsi kecil dan merupakan fenomena alamiah dalam siklus hidup suatu mikroorganisme. Produk dari hasil mutasi ini disebut dengan mutan. Suatu varian baru ditetapkan jika ditemukan sifat fenotip yang berbeda dibandingkan virus asalnya sebagai akibat dari mutasi. Saat ini ilmuwan menggunakan monitoring varian menggunakan *Pango lineages* atau pelabelan baru oleh WHO yang lebih mudah diingat.

Dalam tubuh manusia atau pejamu lainnya, mutasi virus dapat berpengaruh atau tidak berpengaruh (*silent mutation*) pada timbulnya gejala serta penatalaksanaan medis (*medical countermeasures*). Hal ini sangat tergantung pada regio gen yang bermutasi. Ilmuwan telah menemukan regio gen yang paling sering bermutasi adalah area perlekatan virus pada sel manusia, yang dikenal dengan bagian dari protein S (*Spike*) yang disebut dengan *Receptor Binding Domain* (RBD). SARS-CoV-2, virus penyebab COVID-19, terdiri dari materi genetik asam ribonukleat (*ribonucleic acid* atau disingkat RNA) dengan panjang kurang lebih 30 kilobase, dan akhir-akhir ini telah dilaporkan terjadinya mutasi pada beberapa lokasi dalam susunan RNanya.

Berdasarkan level kewaspadaan dan pengukuran risiko penurunan kemampuan diagnostik, terapeutik dan efikasi vaksin, WHO SARS-CoV-2 Virus Evolution Working Group menetapkan 3 level varian yaitu:

**a. Variant of Interest (VOI):** SARS-CoV-2 yang terbukti mengalami perubahan sifat fenotip sebagai akibat mutasi dan telah teridentifikasi terjadi penyebaran dalam suatu komunitas atau terdeteksi di beberapa negara.

**b. Variant of Concern (VOC):** VOI yang berhubungan dengan peningkatan penyebaran dan perubahan epidemiologi yang mengarah pada perburukan, atau peningkatan virulensi atau perubahan manifestasi klinis, atau penurunan efektivitas metode diagnosis, vaksin, dan terapi yang digunakan.

**c. Variant of High Consequence (VOHC):** VOC yang terbukti berdampak pada perubahan pencegahan atau menurunnya efektivitas intervensi medis yang secara signifikan (*medical countermeasures*) secara relatif jika dibandingkan dengan varian yang sebelumnya beredar, meliputi:

**Sekretariat** : Departemen Mikrobiologi FKUI, Jl. Pegangsaan Timur 16 Jakarta 10320, Telp/Fax 021-3916826

**Alamat Kontak** : Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Jl. Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60286, Telp. (+62-31) 5020251 5030252-3 Ext. 159, Fax. 5501508



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

- kegagalan diagnostik secara relative
- penurunan efektivitas vaksin secara signifikan ditandai dengan peningkatan jumlah kasus pasca vaksinasi atau proteksi vaksin yang rendah terhadap penyakit dengan gejala berat.
- penurunan sensitifitas terhadap beberapa modalitas terapi dibawah Emergency Use Authorization (EUA) atau yang telah disetujui
- terjadinya perburukan klinis dan meningkatnya kebutuhan rawat inap

Ditemukannya VOHC harus dilaporkan kepada WHO untuk selanjutnya akan diumumkan strategi pencegahan, menahan laju transmisi dan rekomendasi terapi dan vaksin yang paling mutakhir

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia telah berkoordinasi dengan berbagai institusi untuk mengumpulkan data hasil sekruensing genom virus SARS-CoV-2. Berdasarkan data tersebut, dari 1.908 sekruens genom lengkap dilaporkan bahwa virus SARS-CoV-2 varian baru di Indonesia saat ini (per-13 Juni 2021) adalah:

- *Variant of concern (VOC):*
  - Alpha / B.1.17 (UK): 35 kasus
  - Beta / B.1.351 (Afrika Selatan): 5 kasus
  - Gamma / P1 (Brasil): belum ada
  - Delta / B.1.617.2 (India): 50 kasus
- *Variant of Interest (VOI):*
  - A.23.1 (UK): 6 kasus
  - Eta / B.1.525 (Nigeria): 4 kasus
  - Epsilon/B.1.429 : 0 kasus
  - B.1.617.3 (India): 1 kasus
- *Variant of High Consequence (VOHC):* belum ada

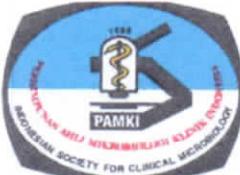
Beberapa hal yang penting diperhatikan dalam pemeriksaan PCR SARS-CoV-2 dengan adanya varian baru adalah:

## 1. Spesimen

Spesimen yang digunakan untuk deteksi varian baru virus SARS-CoV-2 adalah sama seperti yang saat ini dilakukan, yaitu swab nasofaring dan orofaring. Sampai saat ini tidak terdapat perubahan patogenesis infeksi, dengan pintu masuk dan keluar terutama melalui mukosa saluran pernafasan.

Kualitas spesimen yang baik sangat menentukan hasil pemeriksaan PCR SARS-CoV-2. Hal-hal di bawah ini perlu diperhatikan untuk menjaga kualitas spesimen:

- Swab terbuat dari bahan dakron, bukan kapas atau cotton
- Spesimen swab harus mengandung sel epitel saluran pernapasan, oleh karenanya pengambilan swab harus sampai menyentuh dinding belakang faring sambil diputar
- Swab segera dimasukkan ke dalam *viral transport media* (VTM)
- Swab didalam VTM segera diproses untuk pemeriksaan PCR, dapat disimpan pada suhu kamar dalam 2 jam atau pada suhu 4°C dalam 24 jam
- Untuk keperluan *sequencing*, dipastikan bahwa VTM yang digunakan tidak mengandung *lysis buffer*



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

## 2. Gen Target PCR SARS-CoV-2

### a. Gen S

Gen S virus SARS-CoV-2 memiliki sekuen nukleotida yang khas, sehingga merupakan gen target yang ideal mengingat reaksi silang yang rendah terhadap *Human Coronavirus* lainnya (MERS, SARS-CoV-1, *Human Coronavirus* 229E, dan lain-lain). Gen S mengkode pembentukan protein *spike* (protein S) yang sangat imunogenik dan merupakan protein terpenting dalam perlekatan virus pada permukaan sel host. Protein ini merupakan protein yang berinteraksi langsung dengan lingkungan luar virus (faktor fisika, kimia, dan biologis) sehingga protein ini sangat berpotensi mudah bermutasi, sebagai strategi virus dalam beradaptasi terhadap faktor tekanan lingkungan virus. Mutasi gen S paling sering terjadi dan mempengaruhi perjalanan infeksi meliputi laju infeksi dan penularannya, serta memberikan dampak terhadap efikasi vaksin dan/atau sensitivitas uji diagnosis PCR (menyebabkan hasil negatif palsu atau *false negative*).

Dampak mutasi gen S terhadap pengujian diagnosis PCR tersebut umumnya terjadi pada uji PCR yang menargetkan gen S. Namun, saat ini hampir semua target pengujian PCR berbasis multi-gen target, sehingga mutasi di salah satu gen masih bisa terdeteksi oleh target gen lain.

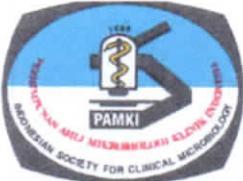
**Telah dikembangkan pemeriksaan PCR untuk identifikasi keberadaan mutasi pada gen S yang ditemukan pada VOI, VOC maupun VOHC, namun pemeriksaan yang berbasis pada deteksi mutasi pada gen S tidak dikembangkan untuk keperluan diagnostik klinik yang terkait dengan tata laksana pasien. Produsen kit PCR untuk mendeteksi mutasi pada gen S yang beredar di Indonesia saat ini juga hanya merekomendasikan penggunaan kit ini untuk kepentingan riset saja (*Research Use Only/RUO*), dan pemanfaatannya hanya terbatas untuk keperluan skrining keberadaan mutasi pada gen S pada sampel yang diperkirakan sebagai VOI, VOC maupun VOHC sebelum pelaksanaan *whole genome sequencing (WGS)*.**

### b. Gen N

Gen N mengkode pembentukan protein nukleokapsid dan merupakan daerah lestari (*conserved*), sehingga sangat kecil peluangnya untuk bermutasi. Gen ini merupakan salah satu target yang sangat baik dan memiliki sensitivitas analitik yang sangat tinggi dalam deteksi SARS-CoV-2 dengan metode RT-PCR. Dengan menggunakan gen N sebagai deteksi mempunyai kemampuan sedikitnya 10 copy per reaksi. Gen N mengkode pembentukan protein struktural nukleokapsid dan merupakan protein lestari (*conserved*) dibandingkan dengan protein struktural lainnya seperti protein E, M, dan S. Selain itu, jumlah kopi mRNA gen N juga paling banyak dibandingkan mRNA lainnya, sehingga menjadikan gen N sebagai target uji diagnostik PCR paling sensitif dibandingkan gen lainnya. **Sejauh ini pada gen N dilaporkan kecil peluang terjadinya mutasi, oleh karenanya kemampuan gen dalam mendeteksi varian baru masih dapat direkomendasikan.**

### c. Gen E

Gen E mengkode pembentukan protein E (*envelope*) yang merupakan protein selubung virus yang berperan penting dalam siklus kehidupan virus dan patogenesis. Fungsi yang baru ditemukan adalah sebagai *channel ion* (*viroporin*). Gen ini biasanya digunakan untuk menskrining deteksi kelompok *Coronavirus*, dan memerlukan uji konfirmasi dengan gen lainnya. **Kemampuan gen E**



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

dalam mendeteksi varian baru sejauh ini masih baik dan seringkali digunakan bersamaan dengan gen *N* maupun *ORF1ab*.

#### d. Gen *Orf1ab* atau *RdRp*

*Orf1ab* mengandung sekitar 16 gen yg mengkode 16 non struktural protein termasuk *RdRp* yg penting dalam proses transkripsi dan replikasi virus. Daerah *Orf1ab* merupakan daerah yang paling lestari dibandingkan gen yang mengkode protein struktural lainnya. Oleh karena itu, daerah *Orf1ab* sering digunakan sebagai target untuk deteksi dan/atau mengkonfirmasi deteksi virus SARS-CoV-2.

Penggunaan lebih dari satu gen target dalam pemeriksaan PCR (*N*, *ORF1ab*, dan *RdRp*) dapat meningkatkan kemampuan mendeteksi virus, termasuk varian baru.

#### REKOMENDASI:

1. Untuk tujuan diagnostik COVID-19, pemeriksaan *real time RT-PCR* SARS-CoV-2 harus menggunakan sedikitnya 2 gen sebagai target deteksi.
2. Apabila manifestasi klinis, parameter biokimiawi, dan radiologis mengarah pada diagnosis COVID-19 sedangkan hasil pemeriksaan PCR SARS-CoV-2 negatif maka disarankan:
  - Dilakukan pengulangan PCR SARS-CoV-2 menggunakan gen target yang berbeda atau hasil pemeriksaan dikombinasi dengan deteksi antigen SARS-CoV-2.
  - Bila memungkinkan dilakukan pengulangan pemeriksaan dari spesimen lain yang ditentukan bersama dengan Dokter Penanggungjawab Laboratorium Mikrobiologi Klinik
  - Sampai saat ini belum terbukti bahwa hasil negatif palsu PCR SARS-CoV-2 berhubungan dengan keberadaan varian baru SARS-CoV-2. Oleh karena itu jika hasil pengulangan PCR SARS-CoV-2 tetap negatif, maka hasil dinyatakan negatif dan tidak direkomendasi dilakukan WGS.
3. PAMKI **tidak** merekomendasikan penggunaan kit *real time RT-PCR* yang secara khusus dirancang untuk mendeteksi mutasi pada gen *S* untuk tujuan diagnostik laboratorium COVID-19, melainkan untuk tujuan skrining WGS atau untuk tujuan riset dan surveilans.
4. Sehubungan dengan meningkatnya SARS-CoV2 varian baru maka WGS selayaknya diprioritaskan untuk pemantauan munculnya varian baru secara berkesinambungan.

#### **Daftar Pustaka**

1. [https://cov-lineages.org/pango\\_lineages.html](https://cov-lineages.org/pango_lineages.html)
2. Bal A, Destras G, Gaymard A., et al. (2021). Two-step strategy for the identification of SARS-CoV-2 variant of concern 202012/01 and other variants with spike deletion H69-V70, France, August to December 2020. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.3.2100008>
3. Callaway E. The coronavirus is mutating - does it matter? Nature. 2020 Sep;585(7824):174-177. doi: 10.1038/d41586-020-02544-6. PMID: 32901123.
4. McIntosh, K. & Perlman, S. Coronaviruses, including severe acute respiratory syndrome (SARS) and Middle East respiratory syndrome (MERS). In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* 9th edn (Bennett, J. E., Dolin, R. & Blaser, M. J., eds) 2072–2080 (Elsevier, 2020)

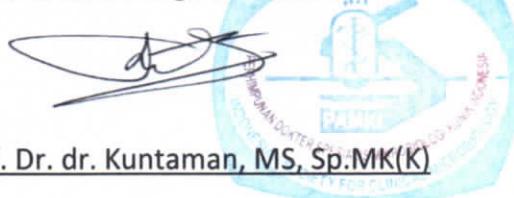


**PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS MIKROBIOLOGI KLINIK INDONESIA**  
**(INDONESIAN SOCIETY FOR CLINICAL MICROBIOLOGY)**  
**PAMKI**

5. SA Kemp, Bo Meng, IATM Ferriera, R Datir, WT Harvey, Guido Papa, et al. Recurrent emergence and transmission of a SARS-CoV-2 spike deletion H69/V70. bioRxiv 2020.12.14.422555; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.12.14.422555>
6. SA Kemp, DA Collier, R Datir, IATM Ferreira, S Gayed, A Jahun, et al Neutralising antibodies in Spike mediated SARS-CoV-2 adaptation. medRxiv 2020.12.05.20241927; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.12.05.20241927>
7. Plante, J.A., Liu, Y., Liu, J. et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature* **592**, 116–121 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2895-3>
8. Gallagher, J. New coronavirus variant: what do we know? *BBC News* <https://www.bbc.com/news/health-55388846> (20 December 2020).
9. Ascoli, C.A. Could mutations of SARS-CoV-2 suppress diagnostic detection?. *Nat Biotechnol* **39**, 274–275 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41587-021-00845-3>
10. <https://www.ox.ac.uk/news/2021-05-26-sars-cov-2-naming-system-given-open-platform-harnesses-international-scientific>
11. [https://virological.org/t/pango-lineage-nomenclature-provisional-rules-for-naming\\_recombinant-lineages/657](https://virological.org/t/pango-lineage-nomenclature-provisional-rules-for-naming-recombinant-lineages/657)
12. WHO.Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>
13. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020 Jan. 25 (3):
14. Hasan MR, Sundararaju S, Manickam C, Mirza F, Al-Hail H, Lorenz S, Tang P. 2021. A novel point mutation in the N gene of SARS-CoV-2 may affect the detection of the virus by reverse transcription-quantitative PCR. *J Clin Microbiol* 59:e03278-20
15. Michael Kidd, Alex Richter, Angus Best, Nicola Cumley, Jeremy Mirza, Benita Percival, Megan Mayhew, Oliver Megram, Fiona Ashford, Thomas White, Emma Moles-Garcia, Liam Crawford, Andrew Bosworth, Sowsan F Atabani, Tim Plant, Alan McNally, S-Variant SARS-CoV-2 Lineage B1.1.7 Is Associated With Significantly Higher Viral Load in Samples Tested by TaqPath Polymerase Chain Reaction, *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 223, Issue 10, 15 May 2021, Pages 1666–1670
16. Stephen Tahan, Bijal A. Parikh <https://orcid.org/0000-0003-2490-8294>, Lindsay Droit, Meghan A. Wallace, Carey-Ann D. Burnham and David Wang ARS-CoV-2 E gene variant alters analytical sensitivity characteristics of viral detection using a commercial RT-PCR assay, <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/JCM.00075-21>

Jakarta, 14 Juni 2021

Ketua Umum Pengurus Pusat PAMKI



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

PENGURUS PUSAT