

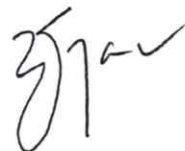




INSTRUKSI KERJA

PEMERIKSAAN ELISA DENGAN REAGENSIA HIV MUREX

NO DOKUMEN	:	UDDP-IMLTD-L3-018
VERSI	:	001
TANGGAL BERLAKU	:	01 DESEMBER 2022
TANGGAL REVIEW	:	01 DESEMBER 2024
STATUS DOKUMEN	:	MASTER : <input type="checkbox"/> SALINAN NO : <input type="checkbox"/>

<p>Disusun oleh:</p> <p>Trisni Octaria Mulyani Winata, S.Si Staff Rujukan Nasional UDD Pusat Palang Merah Indonesia</p>	<p>Tanda tangan: </p> <p>Tanggal: 16 NOV 2022</p>
<p>Diperiksa oleh:</p> <p>Arfat lusinanto, S.Si Ka.Subid. Rujukan Nasional UDD Pusat Palang Merah Indonesia</p>	<p>Tanda tangan: </p> <p>Tanggal: 17 NOV 2022</p>
<p>Disetujui oleh:</p> <p>dr. Nova Surya Hippy, M.Biomed Ka.Bid. Pelayanan Darah UDD Pusat Palang Merah Indonesia</p>	<p>Tanda tangan: </p> <p>Tanggal: 21 NOV 2022</p>
<p>Disahkan oleh:</p> <p>Dr.dr. Saptuti Chunaeni, M.Biomed Manajer Kualitas UDD Pusat Palang Merah Indonesia</p>	<p>Tanda tangan: </p> <p>Tanggal: 24 NOV 2022</p>



 Palang Merah Indonesia Unit Donor Darah Pusat	IK PEMERIKSAAN ELISA DENGAN REAGENSIA HIV MUREX		Halaman 1 dari 7 Nomor : UDDP-IMLTD-L3-018 Versi : 001 Tanggal berlaku: 01 Des 2022 Tanggal kaji ulang: 01 Des 2024
	Bidang Pelayanan Darah	Sub. Bidang Rujukan Nasional	

1. Tujuan

Intruksi kerja ini menjelaskan proses pemeriksaan *ELISA* menggunakan reagensia hiv *Murex*

2. Prosedur yang terkait

Standar Prosedur Operasional Pemeriksaan Uji Saring Pada (UDDP-IMLTD-L2-003)

3. Referensi

- 3.1. Unit Transfusi Darah Pusat, Pedoman Pelayanan Transfusi Darah, Buku 4, Edisi Ketiga 2007.
- 3.2. Formulir serah terima sampel - Penerimaan dan pengiriman sampel (UDDP-PDD-L4-022)
- 3.3. *Constantine, N.T., Retroviral testing and Quality Assurance*, 2005.
- 3.4. *Technical Manual AABB, Edisi ke 15*, 2005
- 3.5. *European Committe on Blood Transfusion, Guide to the Preparation Use and Quality Assurance of Blood Component*, 16Th Edition, 2010.


4. Peralatan dan Bahan

- 4.1. Sarung tangan laboratorium
- 4.2. Pelindung tubuh (jas lab)
- 4.3. Sepatu pelindung
- 4.4. Pelindung wajah/masker (bila menggunakan bahan *aerosol*)
- 4.5. Penutup kepala (bila berambut panjang)
- 4.6. *Murex HIV Ag-Ab Combinations*
- 4.7. Sampel darah lengkap (*whole blood*)

5. Instruksi Kerja

- 5.1. Persiapan sampel dan reagensia
 - 5.1.1. Pastikan menggunakan APD (UDDP-IMLTD-L3-021) untuk melakukan pengecekan kondisi alat dan laboratorium
 - 5.1.2. Biarkan semua sampel dan reagesia yang akan diperiksa pada suhu kamar sebelum digunakan. Dan kembalikan segera semua reagensia setelah digunakan ke tempat penyimpanan sesuai dengan ketentuan pada leaflet.
 - 5.1.3. Sampel yang digunakan dapat berupa serum / plasma yang bebas dari kontaminasi bakteri, hemolisis dan presipitasi.



 <p>Palang Merah Indonesia Unit Donor Darah Pusat</p>	<p>IK PEMERIKSAAN ELISA DENGAN REAGENSIA HIV MUREX</p>		<p>Halaman 2 dari 7 Nomor : UDDP-IMLTD-L3-018 Versi : 001 Tanggal berlaku: 01 Des 2022 Tanggal kaji ulang: 01 Des 2024</p>
	<p>Bidang Pelayanan Darah</p>	<p>Sub. Bidang Rujukan Nasional</p>	

5.1.4. Beri label (nomor kantong darah) pada setiap tabung sampel yang akan diperiksa, pastikan setiap deret tabung pada rak diberi jarak untuk menghindari kesalahan dalam bekerja

5.2. Persiapan alat

- 5.2.1. Tip kuning sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan.
- 5.2.2. Tip biru sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan
- 5.2.3. Tabung reaksi sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan
- 5.2.4. Siapkan mikropipet dengan ukuran sesuai dengan *volume* yang akan digunakan untuk pemeriksaan.
- 5.2.5. Perhatikan tanggal berakhirnya kalibrasi mikropipet.
- 5.2.6. Periksa apakah inkubator dapat dinyalakan.
- 5.2.7. Periksa apakah suhu yang digunakan untuk pemeriksaan dapat tercapai.
- 5.2.8. Periksa apakah *washer* dapat dinyalakan.
- 5.2.9. Periksa apakah *washer* dapat digunakan untuk pemeriksaan
- 5.2.10. Periksa apakah *reader* dapat dinyalakan.
- 5.2.11. Periksa apakah *reader* dapat digunakan untuk pemeriksaan
- 5.2.12. Siapkan kertas untuk mencetak hasil pemeriksaan.
- 5.2.13. Periksa apakah *printer* dapat dinyalakan.
- 5.2.14. Periksa apakah *printer* dapat digunakan untuk mencetak hasil pemeriksaan


5.3. Persiapan Pemeriksaan

- 5.3.1. Pemeriksaan harus sesuai dengan *leaflet* dari pabrik dan mengikuti SPO yang ada pada Unit Donor Darah Pusat Palang Merah Indonesia.
- 5.3.2. Kontrol yang ada pada kit dan sampel QC harus selalu disertakan pada setiap pemeriksaan untuk memonitor hasil pemeriksaan.
- 5.3.3. Hitung validitas dari setiap pemeriksaan sesuai ketentuan pada *leaflet* dari pabrik dan harus ada orang kedua yang mengecek kembali perhitungan dan semua data yang ada pada lembar kerja pemeriksaan lalu hasil disahkan oleh Kepala Seksi Rujukan.

5.4. Interpretasi Hasil

- 5.4.1. Catat *absorbans* (OD) dan Cutoff (COV) dari setiap sampel yang diperiksa pada lembar kerja.
- 5.4.2. Harus ada orang kedua yang mengecek kembali pencatatan hasil.
- 5.4.3. Jika *absorbans* (OD) sampel lebih kecil dari Cutoff (COV), sampel tersebut dianggap **Non Reaktif**
- 5.4.4. Jika *absorbans* (OD) sampel lebih besar dari Cutoff (COV), sampel tersebut dianggap **Reaktif**
- 5.4.5. Semua hasil sebelum dikeluarkan harus dicek kembali oleh orang kedua dan disahkan oleh Kepala Seksi Rujukan.



 Palang Merah Indonesia Unit Donor Darah Pusat	IK PEMERIKSAAN ELISA DENGAN REAGENSIA HIV MUREX		Halaman 3 dari 7 Nomor : UDDP-IMLTD-L3-018 Versi : 001 Tanggal berlaku: 01 Des 2022 Tanggal kaji ulang: 01 Des 2024
	Bidang Pelayanan Darah	Sub. Bidang Rujukan Nasional	

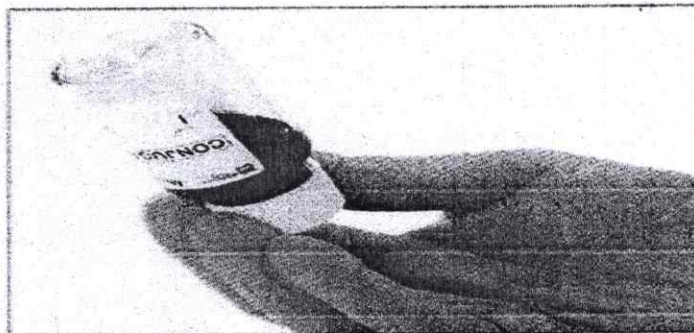
5.5 Pemeriksaan Anti HIV Murex

5.5.1. Persiapan Reagensia

5.5.1.1 Biarkan reagensia pada suhu kamar.

5.5.1.2 Buat larutan pencuci dengan cara mengencerkan *Glycine/Borate Wash Fluid* Konsentrat 20 kali dengan aquadest. Encerkan 1 botol (125 ml) larutan pencuci konsentrat dengan *aquadest* sampai volume 2500 ml. Larutan pencuci yang telah diencerkan ini harus disimpan dalam wadah tertutup rapat dan stabil selama 1 bulan pada suhu kamar (18-30°C). Catatan : Dalam penyimpanan larutan pencuci dapat berubah warna menjadi kuning, perubahan warna ini tidak berpengaruh pada pemeriksaan, selama larutan pencuci dapat terserap dengan sempurna pada saat pencucian.

5.5.1.3 Buat larutan *conjugate* \pm 30 menit sebelum digunakan, dengan cara mengencerkan 1 botol konjugat konsentrat dengan 1 botol konjugat *diluent*. Larutan konjugat ini stabil selama 4 (empat) minggu pada suhu 2 - 8°C.




5.5.1.4 Buat Larutan Substrate dengan cara sbb :

Jumlah Sumur											Jumlah Plate			
8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	96	1	2	3	4
Substrate Concentrate (ml)														
0.5	1	2	2.5	2.5	3.0	3.5	4	4.5	4.5	6	6	12	18	22
Substarte Diluent (ml)														
0.5	1	2	2.5	2.5	3.0	3.5	4	4.5	4.5	6	6	12	18	22

Hindari dari cahaya langsung, larutan *substrate* harus berwarna kuning pucat, jika warnanya telah berubah menjadi hijau sebelum digunakan, maka larutan tersebut tidak dapat dipakai.

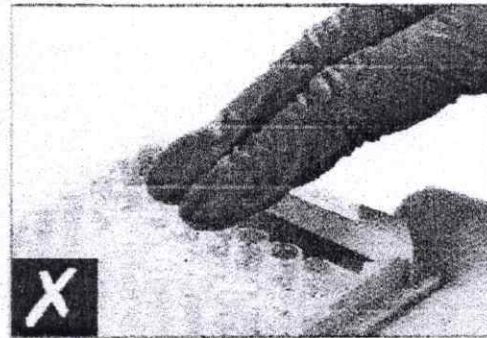
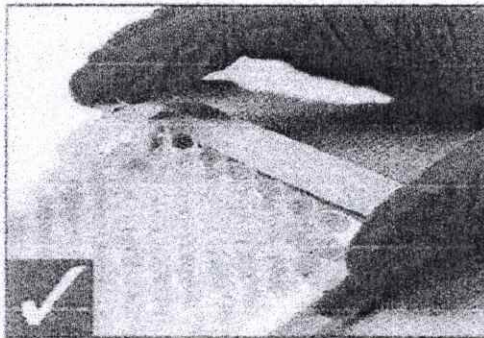
Larutan *substrate* ini stabil pada suhu 2 - 8°C atau 15 - 25°C selama 2 hari, tetapi jika sudah terbentuk kristal maka larutan tidak dapat digunakan lagi.



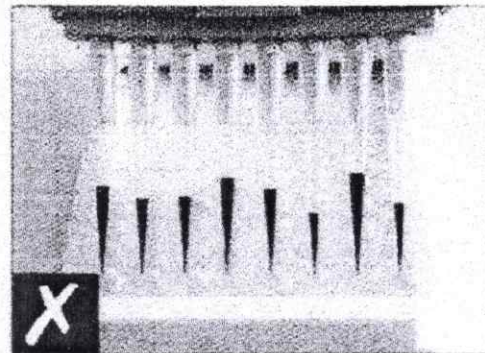
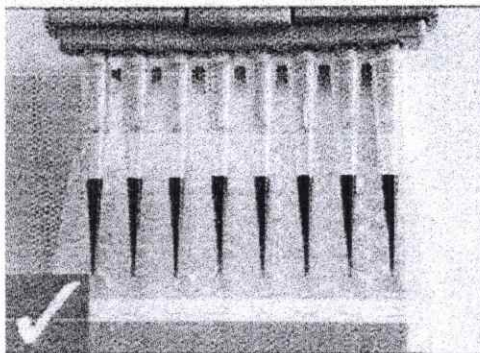
 <p>Palang Merah Indonesia</p> <p>Unit Donor Darah Pusat</p>	<p>IK</p> <p>PEMERIKSAAN ELISA DENGAN REAGENSIA HIV MUREX</p>		<p>Halaman 4 dari 7</p> <p>Nomor : UDDP-IMLTD-L3-018</p> <p>Versi : 001</p> <p>Tanggal berlaku: 01 Des 2022</p> <p>Tanggal kaji ulang: 01 Des 2024</p>
	<p>Bidang Pelayanan Darah</p>	<p>Sub. Bidang Rujukan Nasional</p>	

5.6 Prosedur Kerja

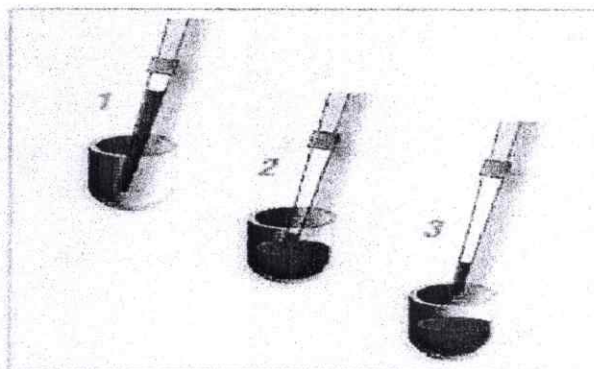
5.6.1. Siapkan *Microelisa strips* sesuai dengan jumlah pemeriksaan.



5.6.2. Pipet 25 μ l sampel *diluent* pada seluruh sumur.



5.6.3. Pipet 100 μ l sampel kedalam sumur.



MASTER

DOKUMEN TERKENDALI

Salinan No :



Unit Donor Darah Pusat

IK
PEMERIKSAAN ELISA DENGAN
REAGENSIA HIV MUREX

Bidang
Pelayanan Darah

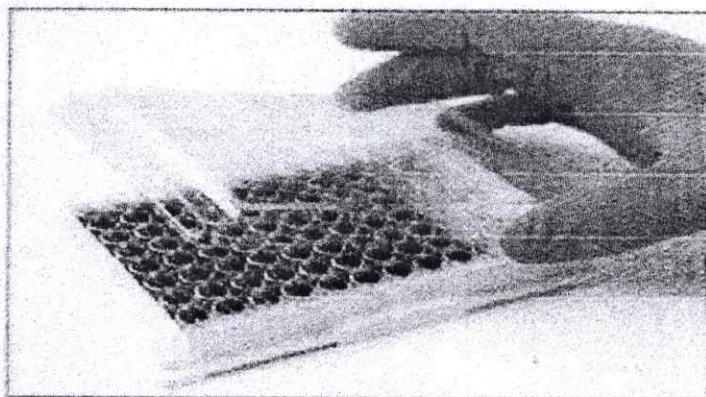
Sub. Bidang
Rujukan Nasional

Halaman 5 dari 7
Nomor : UDDP-IMLTD-L3-018
Versi : 001
Tanggal berlaku: 01 Des 2022
Tanggal kaji ulang: 01 Des 2024

- 5.6.3.1. Pipet 100 μ l Negatif Kontrol (3 NC) kedalam sumur A1, B1, C1.
- 5.6.3.2. Pipet 100 μ l Positif kontrol p24 kedalam sumur D1.
- 5.6.3.3. Pipet 100 μ l Positif kontrol HIV-1 kedalam sumur E1.
- 5.6.3.4. Pipet 100 μ l positif kontrol HIV-2 kedalam sumur F1.

Pipet Kontrol setelah sampel.

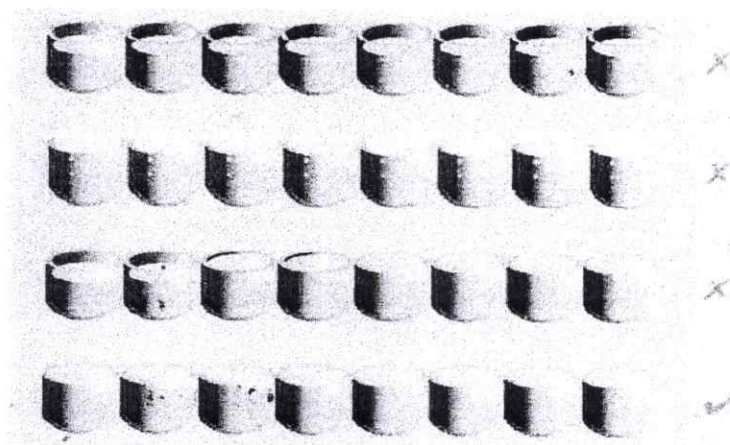
- 5.6.4. Tutup strip plate dengan cover.



- 5.6.5 Inkubasi pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 60 Menit.

- 5.6.6 Buka strip sealer

- 5.6.7 Cuci masing - masing sumur 5 (lima) kali @ 500 ul, dengan jarak waktu pencucian 30 detik pada setiap kali pencucian.



- 5.6.8. Balikkan plate di atas tissue, kemudian ketuk diatas tissue.


- 5.6.9. Isi masing - masing sumur dengan 100 μ l larutan Conjugate .

- 5.6.10. Tutup strip plate dengan strip sealer.

MASTER

DOKUMEN TERKENDALI

Salinan No :

 <p>Palang Merah Indonesia Unit Donor Darah Pusat</p>	<p>IK PEMERIKSAAN ELISA DENGAN REAGENSIA HIV MUREX</p>		<p>Halaman 6 dari 7 Nomor : UDDP-IMLTD-L3-018 Versi : 001 Tanggal berlaku: 01 Des 2022 Tanggal kaji ulang: 01 Des 2024</p>
	<p>Bidang Pelayanan Darah</p>	<p>Sub. Bidang Rujukan Nasional</p>	

5.6.11. Inkubasi pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 30 Menit.

5.6.12. Buka *strip sealer*.

5.6.13. Cuci masing - masing sumur 5 (lima) kali @ 500 ul, dengan jarak waktu pencucian 30 detik pada setiap kali pencucian.

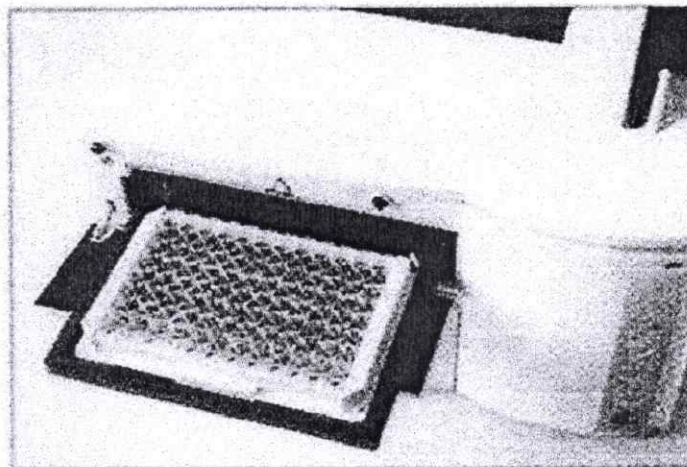
5.6.14. Balikkan *plate* di atas *tissue*, kemudian ketuk diatas *tissue*.

5.6.15. Isi masing - masing sumur dengan 100 μl larutan *Substrate*

5.6.16. Inkubasi pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 30 Menit.

5.6.17. Stop reaksi dengan menambahkan 50 μl H_2SO_4 0.5 M - 2 M.

5.6.18. Baca hasil dalam 15 menit setelah penambahan stop *solution* pada panjang gelombang 450 nm.



Pembacaan Hasil :

Kualifikasi Negatif Kontrol :


1. Hitung Negatif Kontrol rata - rata (NCx).
2. Negatif Kontrol rata - rata (NCx) < 0.15.
3. Masing - masing Negatif kontrol harus lebih kecil dari 0.15 dari NCx .
4. Positif Kontrol > $\text{NCx} + 0.8$.

Bila $\text{PC} < \text{NCx} + 0.8 \rightarrow$ Pemeriksaan harus diulang.

Evaluasi Hasil :

1. Hitung COV $\rightarrow \text{NCx} + 0.15$
2. Bila OD Sampel < COV \rightarrow Non Reaktif (NR)
3. Bila OD Sampel \geq COV \rightarrow Reaktif (R)



 <p>Palang Merah Indonesia</p> <p>Unit Donor Darah Pusat</p>	<p>IK</p> <p>PEMERIKSAAN ELISA DENGAN</p> <p>REAGENSIA HIV MUREX</p>		<p>Halaman 7 dari 7</p> <p>Nomor : UDDP-IMLTD-L3-018</p> <p>Versi : 001</p> <p>Tanggal berlaku: 01 Des 2022</p> <p>Tanggal kaji ulang: 01 Des 2024</p>
	<p>Bidang</p> <p>Pelayanan Darah</p>	<p>Sub. Bidang</p> <p>Rujukan Nasional</p>	

6. Riwayat Perubahan

Nomor Versi	Tanggal Efektif	Referensi	Kesimpulan perubahan
001	01/12/2022		Dokumen baru