

Titer Antibodi Virus Polio Pada Staf Yang Terkait Dengan Laboratorium Nasional Polio Badan Litbangkes

Herna Herianja, Nike Susanti

Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Balitbang Kesehatan, Kemenkes RI.

Email : herna@gmail.com

Abstract

One of the strategy in Polio eradication Program launched by WHO in 2013-2018 was implementation of safe handling of poliovirus and containment viruses to minimize the risk re-introduction poliovirus. The National Polio Laboratory (NPL) holded an important keypoint in containment because of its function to handle and store poliovirus. Each staff who had been working in NPL must had protective antibody titre to three serotypes of poliovirus. It means antibody titre testing was crucial to do to know if all NPL staff were protective to poliovirus. This antibody titre testing was carried out in 2016 to three serotypes of poliovirus using the neutralization method. Sera from all staff related to NPL were used for samples of this testing. The result showed that all staff related to NPL already had protective antibody titre to three serotypes of poliovirus.

Keywords: Polio eradication, poliovirus, neutralization method, protective antibody.

Abstrak

Salah satu strategi dalam program Eradikasi polio (ERAPO) yang dicanangkan oleh WHO 2013-2018 adalah implementasi penanganan virus polio dan *containment* yang aman untuk meminimalkan risiko introduksi ulang virus polio. Laboratorium Nasional Polio (LNP) memegang peran penting dalam *containment* karena perannya dalam menangani dan menyimpan virus polio. Setiap staf yang bekerja di LNP harus mempunyai titer antibodi yang protektif terhadap ketiga serotipe virus polio sehingga pemeriksaan titer antibodi virus polio sangat diperlukan agar dapat mengetahui bahwa staf LNP keseluruhan sudah terlindungi. Pemeriksaan titer antibodi dilakukan pada tahun 2016 terhadap ketiga serotipe virus polio dengan metode uji netralisasi. Sampel yang diperiksa adalah serum dari staf laboratorium polio nasional dan pekerja lainnya yang terkait. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa semua staf laboratorium polio nasional dan pekerja lainnya yang terkait sudah memiliki antibodi protektif terhadap ketiga serotipe virus polio.

Kata kunci: Eradikasi polio, virus polio, uji netralisasi, antibodi protektif.

Latar Belakang

Poliomielitis merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus polio yang menyebabkan paralisis. Sebesar 1-2% pasien terinfeksi virus polio akan menjadi paralisis. Poliomieltis juga dapat meyebabkan kematian akibat paralisis pada otot-otot pernapasan walaupun kasusnya jarang.¹ Virus polio masuk dalam genus *Enterovirus*, famili *Picornaviridae*. Virus polio merupakan virus RNA, rantai tunggal dan transmisi virus polio melalui rute fekal oral dan oral-oral.²

Kasus poliomyelitis telah menurun sebesar 99% sejak dari tahun 1988. Hasil eradikasi polio, lebih dari 16 juta orang telah diselamatkan dari paralisis. Dari ketiga strain virus polio liar, virus polio liar tipe 2 telah dieradikasi sejak tahun 1999 dan tidak ada kasus virus polio liar 3 dilaporkan sejak kasus terakhir di Nigeria pada November 2012.³ Program Eradikasi polio (ERAPO) yang dicanangkan oleh WHO 2013-2018 mempunyai salah satu strategi yang dilakukan adalah implementasi penanganan virus polio dan *containment* yang aman (*safe handling*) untuk meminimalisir risiko introduksi

ulang virus polio. Laboratorium Nasional Polio (LNP) memegang peran penting dalam containment karena di dalam LNP menangani dan menyimpan virus polio. LNP harus mengikuti dan mulai melakukan manajemen biorisiko.⁴⁻⁶ Salah satu yang diperlukan untuk melindungi risiko infeksi pada staf yang bekerja di laboratorium polio harus mempunyai titer antibodi yang protektif terhadap ketiga serotipe virus polio. Demikian juga dengan staf yang baru dan pekerja lainnya yang terkait dengan LNP juga harus memiliki antibodi yang protektif terhadap ketiga serotipe virus polio.⁵ Pemeriksaan titer antibodi virus polio sangat diperlukan agar dapat mengetahui bahwa staf LNP keseluruhan sudah terlindungi. Pemeriksaan titer antibodi ini selain bertujuan untuk mengetahui titer antibodi staf yang bekerja di LNP, juga bertujuan untuk mencegah terjadinya introduksi ulang kembali virus polio pada individu yang tidak mempunyai antibodi protektif dan terpapar.

Bahan dan Metode

Pemeriksaan titer antibodi dilakukan pada tahun 2016 terhadap ketiga tipe virus polio dengan metode uji netralisasi. Sampel yang diperiksa adalah serum yang berjumlah 13 berasal dari staf laboratorium polio nasional dan pekerja lainnya yang terkait seperti *cleaning service* untuk laboratorium, penerima spesimen, dan staf laboratorium lain yang satu lantai. Metode uji netralisasi yang digunakan sesuai dengan uji mikroneutralisasi standar untuk antibodi virus polio tipe 1, 2, dan berdasarkan protokol yang dikembangkan *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)* untuk *Global Polio Specialized Laboratory*.

Langkah pertama, antisera referensi dilarutkan dengan 1 ml *aquadest* steril. Antisera sebanyak 100 μ l ditambahkan 700 μ l *Maintenance Medium* (MM) dan diinkubasi di suhu 56°C selama 30 menit

untuk digunakan sebagai antisera referensi. Sisa antisera disimpan di *freezer* -20°C. Virus dibagi sebanyak 100 μ l lalu diinkubasi di suhu 56°C selama 30 menit. MM 2% FBS ditambahkan sebanyak 700 μ l lalu dicampur (ini merupakan pengenceran 1:8). Virus diencerkan mulai dari 10⁻¹ sampai dengan pengenceran 10⁻⁴. Untuk titrasi balik, larutan diencerkan pada pengenceran 4.5 sebagai 100 TCID₅₀.

Virus ditambahkan 25 μ l MM ke dalam sumur baris B-H untuk sampel, semua sumur untuk titrasi balik dan 50 μ l untuk kontrol sel. Tambahkan 50 μ l serum pengenceran 1:8 dan sudah diinaktivasi di suhu 56°C selama 30 menit pada 3 lubang dibaris A (1-3 untuk sampel 1, 4-6 untuk sampel 2, 7-9 untuk sampel 3 dan 10-12 untuk antisera referensi), serum referensi digunakan setiap kali pengerjaan. Hal yang sama dilakukan untuk pemeriksaan 3 tipe virus (1 *plate* hanya untuk 1 tipe virus). sampel serum dipipet sebanyak 25 μ l di baris A dengan menggunakan *multichannel pipette* dan dipindahkan ke baris B, lalu dicampur selama 7-9 kali, diambil 25 μ l dan dipindahkan ke baris C, lakukan hal yang sama seperti sebelumnya dan teruskan hingga baris H. Volume 25 μ l dari baris H dibuang ke wadah pembuangan. Virus yang sudah diencerkan ditambahkan 4.5 sebagai 100 TCID₅₀ sebanyak 25 μ l pada baris A-B, dan masing-masing 25 μ l virus yang sudah diencerkan 10 TCID₅₀ pada baris C-D, 1 TCID₅₀ pada baris E-F, dan 0,1 TCID₅₀ pada baris G-H. Hal yang sama dilakukan untuk ketiga tipe virus. Sehingga ada 3 *plate* titrasi balik. Virus polio ditambahkan ke semua sumur sebanyak 25 μ l pada *plate* sampel dan titrasi balik (1 *Plate* untuk 1 tipe virus). Inkubasi selama 3 jam pada suhu 36°C. *Split* sel Hep2, tambahkan *Growth Medium* (GM) hingga total volume 30 ml untuk *flask* 75 cm³ dan 10 ml untuk *flask* 25 cm³. GM ditambahkan 25 μ l ke semua *plate*, lalu tutup *plate* dengan penutup *plate sealer* dan inkubasi pada suhu 36 °C. *Plate* diamati selama 5-7 hari atau hingga 24 jam setelah titrasi balik

100 TCID₅₀ menunjukkan *Cytopathic Effect* (CPE) 100%. Sel yang negatif CPE menunjukkan masih mempunyai antibodi yang mampu menetralkan virus. Hasil CPE. Tes dinyatakan sah jika titrasi balik

untuk virus polio tipe 1,2, dan 3 menunjukkan CPE 100% pada titer 100 TCID₅₀ dan tidak menunjukkan CPE pada titer 0,1 TCID₅₀.

Tabel 1. Tabel konversi pengenceran titer antibodi

Pengenceran	Non (bukan) CPE/3	L-d(S-0.5)	Titer
1:8	1/3	$2^2 \times 2^{5/6}$	7.13
	2/3	$2^3 \times 2^{1/6}$	8.98
	3/3	$2^3 \times 2^{1/2}$	11.31
1:16	1/3	$2^3 \times 2^{5/6}$	14.25
	2/3	$2^4 \times 2^{1/6}$	17.96
	3/3	$2^4 \times 2^{1/2}$	22.63
1:32	1/3	$2^4 \times 2^{5/6}$	28.51
	2/3	$2^5 \times 2^{1/6}$	35.92
	3/3	$2^5 \times 2^{1/2}$	45.25
1:64	1/3	$2^4 \times 2^{5/6}$	57.02
	2/3	$2^5 \times 2^{1/6}$	71.84
	3/3	$2^5 \times 2^{1/2}$	90.51
1:128	1/3	$2^5 \times 2^{5/6}$	114.03
	2/3	$2^6 \times 2^{1/6}$	143.68
	3/3	$2^6 \times 2^{1/2}$	181.02
1:256	1/3	$2^6 \times 2^{5/6}$	228.07
	2/3	$2^7 \times 2^{1/6}$	287.35
	3/3	$2^7 \times 2^{1/2}$	632.04
1:512	1/3	$2^7 \times 2^{5/6}$	456.13
	2/3	$2^8 \times 2^{1/6}$	574.7
	3/3	$2^8 \times 2^{1/2}$	724.08
1:1024	1/3	$2^8 \times 2^{5/6}$	912.26
	2/3	$2^9 \times 2^{1/6}$	1149.4
	3/3	$2^9 \times 2^{1/2}$	1448.15
1:2048	1/3	$2^9 \times 2^{5/6}$	1824.52
	2/3	$2^{10} \times 2^{1/6}$	2298.8
	3/3	$2^{10} \times 2^{1/2}$	2896.31
1:4096	1/3	$2^{10} \times 2^{5/6}$	3649.04
	2/3	$2^{11} \times 2^{1/6}$	4597.6
	3/3	$2^{11} \times 2^{1/2}$	5792.62
1:8192	1/3	$2^{11} \times 2^{5/6}$	7298.24
	2/3	$2^{12} \times 2^{1/6}$	9195.21
	3/3	$2^{12} \times 2^{1/2}$	11585.24
1:16384	1/3	$2^{12} \times 2^{5/6}$	14596.48
	2/3	$2^{13} \times 2^{1/6}$	18390.42
	3/3	$2^{13} \times 2^{1/2}$	23710.48
1:32768	1/3	$2^{13} \times 2^{5/6}$	29192.97
	2/3	$2^{14} \times 2^{1/6}$	36780.84
	3/3	$2^{14} \times 2^{1/2}$	46340.95

Keterangan: CPE : *Cytopathic Effect*

L: log dari pengenceran terendah yang digunakan dalam uji

d: perbedaan antara log pengenceran

S: jumlah proporsi uji yang positif (misal: hasil yang menunjukkan CPE)

Hasil

Terdapat 5 orang staf LPN Badan Litbangkes yang diperiksa dan 8 orang pekerja lainnya yang terkait. Pekerja lainnya yang terkait seperti petugas kebersihan laboratorium, penerima spesimen, staf laboratorium lain yang berada satu lantai dengan LPN.

Pemeriksaan antibodi didapatkan bahwa pengenceran titer antibodi untuk polio 1, 2, dan 3 berkisar antara 1:64 sampai dengan di atas 1:1024. Dari hasil pengenceran tersebut kemudian dikonversi ke dalam tabel 1 dan didapatkan hasil seperti yang terdapat dalam tabel 3.

Tabel 2. Hasil pengenceran titer antibodi terhadap virus polio tipe 1, 2, dan 3 pada staf LPN Badan Litbangkes dan pekerja terkait lainnya (n=13)

Pengenceran Titer Antibodi	Virus Polio tipe 1	Virus Polio tipe 2	Virus Polio tipe 3
1/8	0	0	0
1/16	0	0	0
1/32	0	0	0
1/64	0	3	1
1/128	0	1	2
1/256	3	2	1
1/512	4	5	4
1/1024	3	0	3
>1/1024	3	2	2

Pada tabel 2 menunjukkan bahwa seluruh staf yang diperiksa memiliki titer antibodi di atas 8, dan pada tabel 3 menunjukkan bahwa titer antibodi yang tinggi tidak

dipengaruhi oleh lama kerja, tetapi jenis pekerjaan terkait paparan virus polio dan riwayat imunisasi terakhir seperti yang terlihat pada pekerja K dan M.

Tabel 3. Hasil titer antibodi dan data lainnya.

Inisial Pekerja	P1	P2	P3	Lama Kerja(Tahun)	Vaksinasi terakhir (tOPV) (Tahun)	Jenis Pekerjaan
A	632.04	71.84	181.02	30	3	<i>Tissue Culture</i>
B	912.26	574.7	456.13	24	3	Isolasi virus
C	456.13	287.35	574.7	12	3	Isolasi virus dan <i>Tissue Culture</i>
E	228.07	90.51	90.51	9	3	Koordinator lab
D	456.13	181.02	456.13	6	3	Isolasi virus
F	724.08	456.13	912.26	5	3	Sterilisasi
G	912.26	724.08	1149.4	3	3	<i>Cleaning service</i>
H	574.7	632.04	574.7	3	3	Penerima spesimen <i>Handling specimen carrier</i>
I	287.35	57.02	143.68	6	3	
J	1448.15	724.08	1149.4	6	3	Pekerja Lab campak
K	1448.15	1448.15	1448.15	2	1	Pekerja Lab campak
L	1448.15	1448.15	287.35	3	3	penerima spesimen
M	1149.4	574.7	1448.15	3	1	Pekerja satu lantai lainnya

Keterangan: P1: titer antibodi terhadap virus polio tipe 1; P2 : titer antibodi terhadap virus polio tipe 2 ; P3: titer antibodi terhadap virus polio tipe

Untuk pekerja A-F merupakan staf LNP Badan Litbangkes, sedangkan pekerja G-M merupakan pekerja lainnya yang terkait. Urutan pekerja berdasarkan lama bekerja.

Pembahasan

LPN badan Litbangkes merupakan salah satu dari tiga LPN di Indonesia. LPN Badan Litbangkes menerima spesimen dari kasus AFP dari Pulau Sumatera, Pulau Kalimantan, DKI Jakarta dan Banten. Hasil pemeriksaan menunjukkan dari 13 staf dan pekerja lainnya yang terkait, didapatkan semua titer antibodi virus polio tipe 1,2, dan 3 diatas 8 (atau pengenceran 1:8). Titer antibodi 8 merupakan *cut off* titer antibodi yang protektif terhadap virus polio.^{7,8} Pada tabel 1 didapatkan bahwa titer antibodi virus polio tipe 1 di semua pekerja $\geq 228,07$ lebih tinggi dibandingkan titer antibodi untuk virus polio tipe 2 dan 3. Ada satu pekerja yaitu pekerja K,

dimana titer antibodinya untuk virus polio 1, 2, dan 3 sangat tinggi yaitu 1448,15. Di beberapa penelitian juga disebutkan bahwa titer antibodi terhadap virus polio tipe 1 lebih tinggi dan tipe 3 paling rendah.^{9,10}

Apabila dilihat dari riwayat vaksinasi terakhir, semua pekerja tersebut sudah divaksinasi trivalen OPV. Hanya ada 2 orang yang divaksinasi 1 tahun yang lalu yaitu pekerja M dan K. Pekerja M dan K bukan merupakan staf pekerja LNP tapi kemungkinan titer antibodinya tinggi karena vaksinasi terakhirnya 1 tahun yang lalu. Untuk staf yang terkait LPN sudah divaksinasi 1-3 tahun yang lalu. Staf yang divaksinasi 3 tahun terakhir masih menunjukkan titer paling rendah adalah 1/64 yaitu 2 kali di atas titer antibodi yang protektif, yaitu titer antibodi terhadap virus polio tipe 3.^{9,10,11}

Titer antibodi tidak dipengaruhi oleh masa kerja seseorang di laboratorium tetapi lebih dipengaruhi apakah

pekerjaannya banyak paparan terhadap virus polio. Staf dengan masa kerja yang lebih lama dan menangani material non infeksius memiliki titer antibodi lebih rendah dibandingkan staf dengan masa kerja lebih pendek tetapi menangani material infeksius. Semua pekerja menerima vaksinasi tOPV 3 tahun yang lalu kecuali 2 pekerja lainnya yang divaksinasi 1 tahun terakhir karena pekerja baru. Kemungkinan titer antibodi lebih tinggi pada pekerja yang terpapar virus polio adalah bahwa paparan terhadap material infeksius yang mengandung virus polio akan memberikan kekebalan yang sama seperti vaksinasi.^{12,13} Pada literatur lain didapatkan bahwa vaksinasi akan memberikan perlindungan yang sama dengan infeksi oleh virus polio liar. Hal ini disebabkan karena dengan vaksinasi maka akan terjadi imunitas sekunder.^{15,16} Pada studi yang dilakukan oleh Frantzidou dkk menyatakan bahwa pada golongan yang sering terpapar virus polio maka akan memberikan titer antibodi yang lebih tinggi dibandingkan yang tidak sering terpapar. Begitu juga dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa dengan paparan virus polio terus-menerus walaupun tidak divaksinasi memberikan perlindungan yang baik.^{16,17}

Terdapat staf LNP yang ikut dalam pemeriksaan kasus virus polio liar tipe 1 saat wabah poliomyelitis tahun 2005 yaitu pekerja A, B, dan C. Pemeriksaan titer antibodi terhadap virus polio tipe 1 pada ketiga pekerja ini ternyata tidak lebih tinggi dibandingkan dengan pekerja yang lain. Staf laboratorium sudah bekerja di dalam *biosafety cabinet* dan sesuai dengan praktek kerja laboratorium yang baik sehingga paparan terhadap virus polio lebih sedikit. Praktek kerja laboratorium yang baik memang menjadi keharusan di LPN dan agar semua staf yang terkait LPN memiliki titer antibodi yang protektif terhadap ketiga serotipe virus polio untuk meminimalisir risiko terinfeksi virus polio dan yang akan menyebarkan kembali ke lingkungan.^{18,19}

Kesimpulan dan Saran

Semua staf terkait LPN sudah memiliki antibodi protektif terhadap ketiga serotipe virus polio. Apabila ada staf baru atau pergantian pekerja yang terkait LPN sebaiknya diperiksa titer antibodi terhadap virus polio untuk mengetahui titer antibodi terhadap virus polio yang protektif sehingga dapat dilakukan tindakan pencegahan terhadap risiko terinfeksi virus polio.

Daftar Pustaka

1. Leveque N., Semier, LB. A 21st Century Perspective of Poliovirus Replication. *PLOS Pathogens*.2015.1-7
2. WHO. Polio Laboratory Manual. Edisi ke-4. 2004.
3. WHO. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs114/en/>. Diakses tanggal 21 September 2017.
4. Global Polio Eradication Initiative (GPEI). <http://polioeradication.org/>. Diakses tanggal 21 September 2017
5. WHO. Global Action Plan (GAP) III. 2014
6. Wahyuhono G & Herawati M.H. Peran Laboratorium dalam Menunjang Eradikasi Polio. *Media Litbang Kesehatan* 7 II Nomor 1 Tahun 2007.
7. WHO. Manual for the Virological Investigation of Poliomyelitis.1990:63-72.
8. Nathason N. David Bodian's Contribution to the Development of Poliovirus Vaccine. *American Journal of Epidemiology*.2005.Vol 161:3:207-212.
9. Kaliappan SP., Venugopal S, Giri S, Praharaj I, Karthikeyan AS , et al. Factors determining anti-poliovirus type 3 antibodies among orally immunised Indian infants. *Vaccine* 34 (2016) 4979–4984
10. Frantzidou F., Diza E., Halkia D., Antoniadis A. A seroprevalence study of poliovirus antibody in the population of northern Greece. *Clinical Microbiology and Infection* Volume 11, Issue 1, January 2005, Pages 68-71
11. Nates SV., Martinez LC., Barril PA., Feyrerria LJ., Giordano MO.,et al. Long-lasting poliovirus-neutralizing antibodies among Argentinean population immunized with four or five oral polio vaccine doses 1 month to 19 years previously. *Viral Immunol*. 2007 Spring;20(1):3-10
12. Schoub B.D., Blackburn N.K., McAnerney J.M., Seroprevalence to Polio in Personnel at a Virology Institute. *Journal of Infection*.

Volume 43, Issue 2, August 2001, Pages 128-131.

13. Trivello R. , Farisano G., Bonello C., Moschen M E, Baldo V. et al. Immunity Status to Polio virus in Veneto Region (North-East Italy): A Seroepidemiological Survey. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, Vol. 24, No. 6.
14. Wallace G. S., Curns A.T., Weldon W. C. and Oberste M. S. Seroprevalence of Poliovirus Antibodies in the United States Population, 2009–2010. *BMC Public Health* (2016).16:721.DOI 10.1186/s12889-016-3386-
15. Miranda M.P., Gomes M.C, Andrade H.R. Seroprevalence of Antibodies to Poliovirus in Individual Living in Portugal ,2002. *Eurosurveillance* Vol. 12 · Issues 3–6 · Apr–Jun 2007.
16. Frantidou F., Diza E., Halkia D., Antoniadis A. A seroprevalence study of poliovirus antibody in the population of northern Greece. *Clinical Microbiology and Infection* Volume 11, Issue 1, January 2005, Pages 68-71.
17. Aylward RB, Porta D, Fiore L et al. Unimmunized gypsy populations and implications for the eradication of poliomyelitis in Europe. *J Infect Dis* 1997; 175(suppl 1): S86–S88.
18. Grassly N.C. Review: The final stages of the global eradication of poliomyelitis. *Phil Trans R Soc B* 368: 20120140. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2012.0140>.
19. Baicus A. History of polio vaccination. *World J Virol* 2012 August 12; 1(4): 108-114. ISSN 2220-3249 (online).