

Elisa NSP : Deteksi Antibodi untuk Mendiagnosa Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) pada Ruminansia

Siswani¹, Wulandari Utami¹, Rosmiaty²

¹Medik Veteriner Balai Besar Veteriner Maros

²Paramedik Veteriner Balai Besar Veteriner

Jl. DR Sam Ratulangi Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan

Email:siswani.nink@yahoo.com

Abstract

Foot and mouth disease (FMD) is the most contagious mammalian disease and has great potential to cause severe economic losses and social impacts on farmers. There are seven serotypes of Foot and Mouth Disease Virus (FMDV), namely, O, A, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 and Asia 1 (OIE, 2021). FMD cannot be distinguished clinically from other vesicular diseases, such as swine vesicular disease, vesicular stomatitis, and vesicular exanthema, therefore laboratory testing in suspected cases of FMD is the main thing in confirming the diagnosis. The purpose of this paper is to provide an overview of the effectiveness of FMD testing with the Elisa NSP method and the extent to which it can detect antibodies to the FMD virus in ruminants. It can be concluded that the ELISA method for the detection of antibodies to NSP from FMDV can be used to identify previous or current infection with any of the seven viral serotypes. Therefore this method can be used to confirm suspected cases of FMD and to evaluate the prevalence of infection or to prove freedom from infection on a population based.

Keyword: *FMD, Elisa NSP, antibody*

Abstrak

Penyakit mulut dan kuku (PMK) adalah penyakit mamalia yang paling menular dan memiliki potensi besar untuk menyebabkan kerugian ekonomi dan dampak sosial yang parah pada peternak. Ada tujuh serotipe virus *Foot and Mouth Disease Virus* (FMDV), yaitu, O, A, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 dan Asia 1 (OIE, 2021). PMK tidak dapat dibedakan secara klinis dari penyakit vesikular lainnya, seperti penyakit vesikular babi, stomatitis vesikular, dan eksantema vesikular, oleh karena itu pengujian laboratorium pada kasus suspek PMK menjadi hal utama dalam peneguhan diagnosa. Tujuan dari penulisan ini adalah untuk memberikan gambaran terhadap efektivitas pengujian PMK dengan metode Elisa NSP dan sejauh mana dapat mendeteksi antibodi terhadap virus PMK pada ternak ruminansia. Dapat disimpulkan bahwa metode ELISA untuk deteksi antibodi terhadap NSP dari FMDV dapat digunakan untuk mengidentifikasi infeksi sebelumnya atau sekarang dengan salah satu dari tujuh serotipe virus yang ada. Oleh karena itu metode ini dapat digunakan untuk mengkonfirmasi dugaan kasus PMK dan untuk mengevaluasi prevalensi infeksi atau untuk membuktikan kebebasan dari infeksi berdasarkan populasi.

Kata kunci: *PMK, Elisa NSP, antibody*

Pendahuluan

Penyakit mulut dan kuku (PMK) adalah penyakit mamalia yang paling menular dan memiliki potensi besar untuk menyebabkan kerugian ekonomi dan dampak sosial yang parah pada peternak. Ada tujuh serotipe virus *Footh and Mouth Disease Virus* (FMDV), yaitu, O, A, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 dan Asia 1 (OIE, 2021). PMK tidak dapat dibedakan secara klinis dari penyakit vesikular lainnya, seperti penyakit vesikular babi, stomatitis vesikular, dan eksantema vesikular, oleh karena itu pengujian laboratorium pada kasus suspek PMK menjadi hal utama dalam peneguhan diagnosa. Penyakit ini ditandai dengan adanya pembentukan vesikel atau lepuh dan erosi di mulut, lidah, gusi, *nostril*, puting, dan di kulit sekitar kuku (Ditjen PKH, 2019).

Indonesia telah dinyatakan bebas Penyakit PMK sejak tahun 1986, dan diakui oleh Organisasi Kesehatan Hewan Internasional (OIE) pada tahun 1990 (Ditkeswan, 2009). Penularan penyakit PMK melalui pernafasan, dapat tersebar melalui angin, lalu-lintas bahan-bahan makanan, ternak, vaksin yang tercemar virus PMK, dan melalui reproduksi. Gejala klinis yang ditimbulkan dapat bervariasi tergantung galur virus PMK yang menyerang, jumlah virus, umur dan jenis *breed* hewan, *host* dan derajat kekebalan dari *host*. Gejala bervariasi dari yang ringan sampai yang tidak tampak (subklinis) dan bahkan sampai berat. Pada sapi terjadi demam (*pyrexia*), tidak mau makan (*anoreksia*), gemetar, pengurangan produksi susu selama 2-3 hari, terjadi lepuh-lepuh yang terbentuk di dalam mulut. Menurut Harada *et al.* (2007), PMK sangat menular ke hewan berkuku belah, transmisi dilaporkan terjadi melalui kontak langsung dengan hewan terinfeksi, aerosol, semen, produk makanan, dan vomites. Morbiditas penyakit ini sangat tinggi tetapi mortalitasnya rendah dan sangat cepat menular (*highly contagious*) (Rushton dan Knight-Jones, 2013). PMK tidak dapat dibedakan secara klinis dari penyakit vesikular lainnya, seperti penyakit vesikular babi, stomatitis vesikular, dan eksantema vesikular. Oleh karena itu, diagnosis laboratorium dari setiap kasus dugaan PMK merupakan hal yang mendesak (OIE, 2021). Kasus khas PMK ditandai dengan kondisi vesikular pada kaki, mukosa mulut dan pada betina ditandai dengan pembengkakan kelenjar susu serta lesi di area puting susu. Diagnosis PMK adalah dengan isolasi virus atau dengan deteksi antigen virus PMK, deteksi asam nukleat dalam sampel jaringan atau cairan, deteksi antibodi spesifik virus juga dapat digunakan untuk diagnosis, seperti deteksi antibodi terhadap protein *non struktural virus* (NSP) yang digunakan sebagai indikator infeksi, terlepas dari status vaksinasi ternak (OIE, 2021). Karena sifat virus sangat menular dan terkait dengan kepentingan ekonomi, diagnosis laboratorium dan identifikasi

serotipe virus harus dilakukan di laboratorium dengan tingkat biokontainmen yang sesuai, hal tersebut ditentukan dengan analisis risiko, keamanan hayati, standar pengelolaan risiko biologis di laboratorium veteriner dan fasilitas hewan.

Gambaran antibodi spesifik terhadap protein struktural pada hewan yang tidak divaksinasi merupakan indikasi adanya infeksi sebelumnya dengan FMDV. Hal ini sangat berguna dalam kasus ringan atau di mana jaringan epitel/keropeng pada mukosa tidak ditemukan. Uji antibodi terhadap beberapa *Non Structural Protein* (NSP) FMDV berguna dalam memberikan bukti adanya replikasi virus sebelumnya atau saat ini pada ternak, terlepas dari status vaksinasi. NSP, tidak seperti protein struktural lainnya, sangat terkonservasi dan tidak memiliki serotipe yang spesifik sehingga deteksi antibodi ini tidak dibatasi oleh serotipe.

Uji netralisasi virus (VNT) dan ELISA untuk antibodi terhadap protein struktural digunakan sebagai tes serologis spesifik serotipe. VNT bergantung pada kultur jaringan dan karena itu lebih rentan terhadap variabilitas daripada ELISA, mereka juga lebih lambat dan rentan terhadap kontaminasi. ELISA, untuk mendeteksi antibodi memiliki keuntungan lebih cepat, dan tidak bergantung pada kultur sel. ELISA dapat dilakukan dengan antigen yang tidak aktif atau rekombinan, sehingga membutuhkan fasilitas biokontainmen yang tidak terlalu sulit.

Persyaratan untuk vaksin: vaksin virus yang tidak aktif dengan berbagai komposisi tersedia secara komersial, biasanya virus digunakan untuk menginfeksi suspensi atau kultur sel monolayer dan sediaan yang dihasilkan diklarifikasi, diinaktivasi dengan etilenimin dan dipekatkan. Antigen biasanya dicampur dengan minyak atau *oil adjuvan* untuk formulasi vaksin. Banyak vaksin PMK bersifat multivalen untuk memberikan perlindungan terhadap serotipe yang berbeda, atau untuk mengakomodasi keragaman antigenik yang mungkin ditemui dalam situasi lapangan tertentu. Vaksin yang sudah jadi harus terbukti bebas dari sisa virus hidup. Hal ini paling efektif dilakukan dengan menggunakan uji in-vitro pada preparat virus tidak aktif yang terkonsentrasi sebelum formulasi vaksin dan kebebasan dari virus hidup selanjutnya dikonfirmasi selama uji *in vivo* atau *invitro* pada produk jadi. Ujiantang (*challenge*) juga dilakukan pada sapi yang divaksinasi untuk menetapkan nilai PD 50 (50% dosis pelindung) atau perlindungan terhadap infeksi kaki umum (PGP), meskipun uji serologis dianggap memuaskan jika memiliki korelasi yang valid antara protektivitas, dan respons antibodi spesifik telah diberikan.

Tujuan dari penulisan ini adalah untuk memberikan gambaran terhadap efektivitas pengujian PMK dengan metode Elisa NSP dan sejauh mana dapat mendeteksi antibodi terhadap virus PMK pada ternak ruminansia.

Materi dan Metode

Ada berbagai kebutuhan untuk menilai populasi hewan dengan teknik serologis yang terkait dengan epidemiologi penyakit PMK. Penyakit tidak selalu mudah diamati secara klinis (misalnya domba dan kambing), faktor yang memperumit adalah identifikasi pada hewan yang disebut hewan 'pembawa' di mana virus dapat bertahan lama setelah wabah pada spesies yang sama atau dalam jarak dekat pada spesies lain. Pembawa (*carrier*) dihasilkan hanya setelah infeksi di mana ada beberapa penggandaan virus, tetapi tidak semua hewan yang terinfeksi menunjukkan tanda klinis, jadi tetap tidak didokumentasikan kecuali diidentifikasi dengan cara lain, seperti pengujian laboratorium. Pembawa dianggap sebagai ancaman bagi ternak yang tidak kebal dan dapat ditunjukkan pada sapi, domba, kambing, dan kerbau. Risiko penularan penyakit dari pembawa belum ditetapkan dan terkadang menyebabkan tindakan pemotongan yang drastis oleh otoritas veteriner di mana hewan terbukti telah melakukan kontak dengan hewan yang terinfeksi atau dapat terbukti memiliki berbagai antibodi terhadap PMK.

Pengujian spesimen akan dilakukan di laboratorium serologi Balai Besar Veteriner Maros dengan menggunakan spesimen aktif dan pasif. Jenis spesimen yang akan digunakan untuk deteksi antibodi PMK adalah serum dan darah. Metode uji yang akan digunakan adalah metode *Non Structural Protein Enzym Linked Immunosorbant Assay* (ELISA NSP). ELISA NSP adalah metoda ELISA yang digunakan untuk *screening* antibodi PMK pada sampel serum pada hewan yang terpapar virus lapangan. Protein NSP PMK adalah antigen protein yang terdapat dalam virus PMK. Protein NSP ini tidak terdapat dalam virus PMK yang digunakan sebagai vaksin PMK karena protein tersebut hilang pada waktu proses inaktivasi virus untuk vaksin. Sampel positif tidak akan menunjukkan adanya perubahan warna (tetap bening) apabila direaksikan dengan substrat TMB dan stopper.

Peralatan yang dibutuhkan :

1. Komputer
2. *Reader* (MultickanTM FC Microplate Photometer, Thermo FisherScientific).
3. ELISA Well Wash (Thermo ScientificTM),
4. *Shaker*,
5. *Single channel* pipet,

6. *Multichannel* pipet,
7. Mikropipet stand,
8. Microtip 5000 µl, 1000 µl, 200 µl, dan 100 µl.
9. Refrigerator, tabung effendorf

Bahan yang dibutuhkan :

Uji ELISA NSP untuk deteksi antibody menggunakan Kit ELISA *PrioCHECK FMDVNS* buatan *Thermo Fisher Scientific* yang didalamnya berisi:

Test plate (5), conjugate, dilution buffer, additive, demineralize water, washing fluid, positive control, weak positive control, negative control, chromogen (TMB) substrate, stop solution dan certificate analyse.

Spesimen untuk pemeriksaan ELISA PMK adalah serum darah sapi, kambing, domba atau babi. Semua contoh uji harus dianggap berbahaya mengandung virus PMK sehingga penanganan pengujian dilakukan sesuai dengan standard Biosafety dan Biosecurity laboratorium PMK.

Pembuatan Larutan

Persiapan pengujian dilakukan dengan mengikuti acuan dari Kit ELISA (lihat cara penggunaan Kit – *usage guideline*) dan arahan Pusvetma sebagai berikut:

- Pembuatan Larutan *working buffer*.
- Pembuatan larutan *additive*
- Buffer ELISA
- Larutan Conjugate
- Larutan pencuci (*washing buffer*)

Prosedur Pengujian :

- *Dilution Buffer Working Solution (DBWS)*
Larutkan “Dilution Buffer (2x)” (komponen 3) dengan demineralized water dengan perbandingan 1:1, misalnya untuk 1 “tes plate” perlu 24 ml DBWS maka campurkan 12 ml dilution buffer (2x) dengan 12 ml demineralized water.
- *Additive*
Larutkan “Additive” (component 4) dengan 2,5 ml Demineralized Water (komponen 5). Additive yang sudah larut dapat disimpan pada suhu -20⁰C sampai tanggal expirasi.

- Elisa Buffer

Campurkan additive dan DBWS dengan perbandingan 1:10, misalkan untuk 1 plate perlu 24 ml elisa buffer , maka campurkan 2,4 ml additive dengan 21,6 ml DBWS.

“Elisa buffer” yang tersisa bisa disimpan pada suhu 5 ± 3 °C selama 24 jam.

- Washing Solution

Tambahkan “washing fluid (200x)” (component 6) dengan demineralized water dengan perbandingan 1 : 200. Misalnya untuk 1000 ml “washing solution” campurkan 5 ml Washing fluid(200x) dengan 995 ml Demineralized Water.

- Inkubasi serum tes

- Masukkan 80 µl “elisa buffer” ke semua sumuran “tes plate” (komponen 1). Sisa “elisa buffer” disimpan pada suhu 5 ± 3 °C selama 24 jam.

- Masukkan 20 µl “kontrol negatif” (komponen 9) ke sumuran A1 dan B1

- Masukkan 20 µl “kontrol positif” lemah (komponen 8) ke sumuran C1 dan D1

- Masukkan 20 µl “kontrol positif” (komponen 7) ke sumuran E1 dan F1

- Masukkan 20 µl serum yang akan di tes ke dalam plate lalu tutup dengan sealer

- Goyangkan tes plate dengan lembut

- Lakukan inkubasi selama 16-18 jam pada suhu 22 ± 3 °C

- Inkubasi dengan conjugate

- Siapkan “conjugate dilution”, dan campurkan “conjugate (30x)” (komponen 2) dan “elisa buffer” dengan perbandingan 1 :30. Misalnya untuk 1 “tes plate” perlu 12 ml conjugate dilution, maka campurkan 400 µl Conjugate (30x) dengan 11,6ml “elisa buffer”.

- Kosongkan “tes plate” setelah inkubasi, kemudian cuci dengan “washing solution” sebanyak 200-300 µl, diulang 6 kali.

- Masukkan 100 µl “conjugate dilution” ke semua sumuran dari “test plate”.

- Inkubasi selama 60 ± 5 menit pada suhu 22 ± 3 °C

- Inkubasi dengan Chromogen Substrat (TMB)

- Kosongkan “tes plate” setelah inkubasi, kemudian cuci dengan “washing solution” sebanyak

200-300 µl, diulang 6 kali.

- Masukkan 100 µl “Chromogen Substrat (TMB)” (komponen 10) ke semua sumuran pada plate
- Inkubasi selama 20 menit pada suhu $22 \pm 3^{\circ}$ C
- Tambahkan “Stop Solution” (komponen 11) ke semua well
- Goyangkan test plate dengan lembut agar bercampur.
- Pembacaan hasil test

Lakukan pembacaan Optical density (OD) dengan panjang gelombang 450 nm.
Lakukan pembacaan OD segera dan jangan melebihi 15 menit setelah penambahan “stop Solution”

Perhitungan Hasil Test

- Perhitungan rata-rata OD₄₅₀ dari sumuran A1 dan B1 (kontrol Negatif) merupakan “OD₄₅₀ Max”
- Hasil pembacaan OD₄₅₀ dari semua Contoh dihitung dengan “Presentasi Inhibisi” (PI) dengan rumus:

$$\left[\text{PI} = 100 - \frac{\text{OD}_{450} \text{ sample tes}}{\text{OD}_{450} \text{ Max}} \right] \times 100$$

Interpretasi Hasil

Persyaratan validasi uji

- OD₄₅₀ Max (rata rata OD₄₅₀ kontrol negatif) harus >1,00
- Rata rata nilai PI dari kontrol positif lemah >50%
- Rata rata nilai PI dari kontrol positif >70%
- Jika ada yang tidak memenuhi kriteria diatas maka hasil tes dinyatakan tidak valid dan dapat diabaikan

Interpretasi PI

- PI dari tes contoh apabila <50% adalah negatif yaitu tidak ada antibodi Non

Struktural protein pada serum tes

- PI dari tes contoh apabila $\geq 50\%$ adalah positif yaitu ada antibody Non Struktural protein pada serum tes.

Hasil dan Pembahasan

Uji serologi untuk PMK dilakukan untuk mendukung empat tujuan utama yaitu: 1) untuk mensertifikasi hewan individu sebelum impor atau ekspor (yaitu untuk perdagangan); 2) untuk mengkonfirmasi kasus dugaan PMK; 3) untuk membuktikan tidak adanya infeksi; 4) untuk menunjukkan kemanjuran vaksinasi. Untuk membuktikan kebebasan dari infeksi, diperlukan pendekatan yang berbeda sesuai dengan apakah populasi telah divaksinasi atau tidak dan jika vaksinasi telah digunakan, apakah ini telah diterapkan sebagai aplikasi darurat atau sebagai bagian dari program vaksinasi yang sedang berlangsung. Pengujian yang berbeda dan interpretasi yang berbeda dari hasil pengujian akan sesuai dengan tujuan yang disebutkan di atas dan validasi prosedur yang dipilih harus mempertimbangkan tujuan tersebut. Misalnya, batas pengujian dapat ditetapkan pada ambang batas yang berbeda untuk serosurveilans berbasis kelompok daripada yang sesuai untuk sertifikasi bebas dari infeksi untuk hewan individu untuk tujuan perdagangan internasional.

Tes serologis untuk PMK terdiri dari dua jenis; yang mendeteksi antibodi terhadap protein struktural virus (SP) dan yang mendeteksi antibodi terhadap protein nonstruktural virus (NSP). Tes SP relatif spesifik serotipe dan mendeteksi antibodi yang ditimbulkan oleh vaksinasi dan infeksi; contohnya adalah uji netralisasi virus (VNT) (Golding et al., 1976), ELISA kompetisi fase padat (SPCE; Brocchi et al., 1990; Chenard et al., 2003; Mackay et al., 2001; Paiba et al. al., 2004) dan ELISA pemblokiran fase cair (LPBE; Hamblin et al., 1986; 1987). Tes ini sangat sensitif, asalkan virus atau antigen yang digunakan dalam tes sangat cocok dengan strain yang beredar di lapangan. Mereka adalah tes yang digunakan untuk mengesahkan hewan sebelum bergerak, termasuk untuk tujuan perdagangan internasional dan sesuai untuk mengkonfirmasi infeksi sebelumnya atau yang sedang berlangsung pada hewan yang tidak divaksinasi serta untuk memantau kekebalan yang diberikan oleh vaksinasi di lapangan. VNT membutuhkan fasilitas kultur sel, penggunaan virus hidup dan membutuhkan waktu 2-3 hari untuk memberikan hasil. ELISA adalah tes berbasis pemblokiran atau kompetisi yang menggunakan antibodi poliklonal spesifik serotipe (PAbs) atau MAbs, lebih cepat untuk dilakukan dan tidak bergantung pada sistem kultur jaringan dan penggunaan

virus hidup. Reaksi positif palsu titer rendah dapat terjadi pada sebagian kecil serum baik dalam format ELISA. Pendekatan yang menggabungkan penyaringan dengan ELISA dan konfirmasi positif oleh VNT meminimalkan terjadinya hasil positif palsu. Serum referensi untuk membakukan uji serologis FMD SP untuk beberapa serotipe dan sub tipe tersedia dari Laboratorium Referensi OIE di Pirbright.

Deteksi antibodi terhadap NSPs dari FMDV dapat digunakan untuk mengidentifikasi infeksi masa lalu atau sekarang dengan salah satu dari tujuh serotipe virus, apakah hewan tersebut juga telah divaksinasi atau tidak. Oleh karena itu tes dapat digunakan untuk mengkonfirmasi dugaan kasus PMK dan untuk mengevaluasi prevalensi infeksi atau untuk membuktikan kebebasan dari infeksi berdasarkan populasi. Untuk mensertifikasi hewan untuk perdagangan, tes memiliki keunggulan dibandingkan metode SP sehingga serotipe virus tidak perlu diketahui. Namun, ada bukti eksperimental bahwa beberapa sapi, yang divaksinasi dan kemudian ditantang dengan virus hidup dan dipastikan terinfeksi terus-menerus, mungkin tidak terdeteksi dalam beberapa tes anti-NSP, menyebabkan hasil negatif palsu (Brocchi et al., 2006). Tes ini mengukur antibodi terhadap NSP menggunakan antigen yang dihasilkan oleh teknik rekombinan dalam berbagai sistem ekspresi in-vitro. Antibodi terhadap poliprotein 3AB atau 3ABC umumnya dianggap sebagai indikator infeksi yang paling dapat diandalkan (Mackay et al., 1997). Pada hewan yang seropositif untuk antibodi terhadap 3AB atau 3ABC, antibodi terhadap satu atau lebih NSP lain dapat membantu dalam interpretasi akhir tes (Bergmann et al., 2000; Mackay et al., 1997). Namun, kurangnya kemurnian vaksin dapat mempengaruhi spesifisitas diagnostik karena adanya NSP dalam beberapa sediaan vaksin dapat mengakibatkan kesalahan klasifikasi pada hewan yang telah divaksinasi berulang kali. Prosedur untuk mengevaluasi kemurnian vaksin tercakup dalam Bagian D dari bab ini.

Serum standar internasional untuk pengujian ternak telah dikembangkan dan tersedia dari Laboratorium Referensi OIE di Brazil dan Inggris (Campos et al., 2008). Ke depan, sera standar juga akan tersedia untuk domba dan babi. Panel serum sapi juga telah dibuat untuk membandingkan sensitivitas tes NSP (Parida et al., 2007).

Pada saat PMK menginfeksi sel dalam kultur jaringan atau hewan, maka akan bereplikasi, RNA linier FMDV dilepaskan dan digunakan sebagai cetakan untuk menghasilkan protein FMDV. Protein tersebut adalah protein struktural (SP) selubung virus (kapsid) dan protein non-struktural (NSP) yang diperlukan untuk menghasilkan perakitan FMDV infeksius hidup dari protein struktural. Untuk setiap molekul RNA linier ada proses

yang sama di mana jumlah molar yang sama dari SP dan NSP diproduksi. Protein yang dihasilkan adalah semua antigen potensial ketika berinteraksi dengan sistem kekebalan hewan pada infeksi atau bertindak sebagai protein vaksinasi ketika disuntikkan ke hewan. Proses multiplikasi sama pada semua sel hewan yang terinfeksi dan dalam kultur jaringan tetapi ada perbedaan yang mempengaruhi antigenisitas protein dalam dua situasi ini yang berpengaruh pada uji serologis. Pertimbangan lebih lanjut adalah dalam produksi vaksin, yang dihasilkan dari kultur jaringan yang terinfeksi.

ELISA NSP

Antibodi terhadap format ELISA yang berbeda atau immunoblotting, ELISA ini menggunakan antigen murni yang diserap langsung ke lempeng mikro atau menggunakan PAbs atau MAbs untuk menjebak antigen spesifik dari preparat semi-murni (Bergmann *et al.*, 2000; De Diego *et al.*, 1997; Mackay *et al.*, 1997; Sorensen *et al.*, 1998). ELISA tidak langsung dan kompetitif lainnya yang mendeteksi antibodi sapi terhadap 3ABC telah terbukti memiliki karakteristik kinerja diagnostik yang setara (Brocchi *et al.*, 2006). Studi yang sama ini menguatkan data awal dari Panaftosa yang menunjukkan bahwa karakteristik kinerja diagnostik dari tes ini serupa pada sapi, domba dan babi. Kit komersial yang divalidasi untuk identifikasi antibodi terhadap NSP FMDV pada sapi dan spesies lain juga tersedia.

Interpretasi hasil: Hasil pengujian dinyatakan sebagai persen positif relatif terhadap kontrol positif kuat [(densitas optik sumur uji atau kontrol/densitas optik kontrol positif kuat) $\times 100$] atau sebagai alternatif sebagai tes kontrol (T/ C) indeks relatif terhadap kontrol cut-off (yaitu ambang batas positif). Profil tingkat reaktivitas antibodi NSP dalam kawanan bersama dengan stratifikasi usia/vaksinasi membantu interpretasi status infeksi kawanan pada populasi yang divaksinasi (Bergmann *et al.*, 2003). Nilai batas pengujian, dengan atau tanpa zona mencurigakan, perlu ditentukan dengan mempertimbangkan tujuan pengujian dan populasi target yang diinginkan. Hasil yang tidak meyakinkan dapat ditindaklanjuti dengan menggunakan tes konfirmasi, pengujian ulang dengan EITB atau ELISA NSP kedua (dengan mempertimbangkan ketergantungan kondisional dari kedua tes). Sensitivitas dan spesifisitas sistem pengujian secara keseluruhan harus diperhitungkan saat merancang program serosurveilans. Meskipun bukan tes yang cocok untuk mensertifikasi hewan sebelum dipindahkan, ELISA NSP mungkin menjadi tambahan yang berharga dalam keadaan di mana serotipe atau subtipe virus di negara asal tidak diketahui.

Kesimpulan

Dari tulisan ini dapat disimpulkan bahwa metode ELISA untuk deteksi antibodi terhadap NSP dari FMDV dapat digunakan untuk mengidentifikasi infeksi sebelumnya atau sekarang dengan salah satu dari tujuh serotipe virus yang ada. Oleh karena itu metode ini dapat digunakan untuk mengkonfirmasi dugaan kasus PMK dan untuk mengevaluasi prevalensi infeksi atau untuk membuktikan kebebasan dari infeksi berdasarkan populasi.

Daftar Pustaka

- Departemen Pertanian Republik Indonesia. (2004) Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 16 Tahun 1992 tentang Karantina Hewan, Ikan dan Tumbuhan. Jakarta (ID): Deptan.
- Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian. (2009) Kesiagaan Darurat Veteriner Indonesia. Seri: Penyakit Mulut dan Kuku (Kiat Vetindo PMK).Edisi 2.2. Jakarta (ID): Ditkeswan.
- Harada ,Y, Lekcharoensuk P, Furuta T, and Taniguchi T. (2015) Inactivation of foot-and-mouth disease virus by commercially available disinfectants and cleaners. *Biocon. Sci.* 20(3):205-208.
- Hartnett, E., Adkin A, Seaman, M., Cooper J., Watson E, Coburn H, England T, Marooney C, Anthony C, and Wooldridge M. (2007) A quantitative assessment of the risk from illegally imported meat contaminated with foot and mouth disease virus to Great Britain. *Risk.Analysis.* 27(1):187-202. doi: 10.1111/j.1539-6924.2006.00869.x.
- Office International des Epizooties. (2015) WorldAnimal Health Information Database (WAHIS Interface). [internet]. [diacu 2015 Oktober 15]. Tersedia dari : http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Countrytimelines.Paris (FR): World Organization for Animal Health.
- Paton D.J, Sinclair M, and Rodriguez R. (2010) Qualitative assessment of the commodity risk for spread of foot-and-mouth disease associated with international trade in debonedbeef. *Transbound. Emerg. Dis.*57:115–134.
- Rushton J, and Knight-Jones T.J.D. (2013) The impact of foot-mouth-disease. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 1:1-27.
- Rweyemamu M, Roeder P, Mackay D, Sumption K, Brownlie J, Leforban Y, and Valarcher J.F. (2008) Epidemiological patterns of foot- and-mouth disease worldwide. *Transbound. Emerg. Dis.* 55:57–72.
- Ryan E.D, Mackay D, and Donaldson A. (2008) Foot-and-mouth disease virus concentrations in products of animal origin. *Transbound. Emerg. Dis.* 55:89-98.
- Sistem Karantina Hewan. (2015) Badan Karantina Pertanian. [internet]. [diacu 2015 Nopember 6]. Tersedia dari :<http://www.karantina.deptan.go.id/>. Jakarta (ID).
- Valarcher J.F, Leforban Y, Rweyemamu M, Roeder P.L, Gerbier G, Mackay D.K, Sumption K.J, PatonD.J, and Knowles N.J. (2008) Incursions of foot-and-mouth disease virus into Europe between 1985 and 2006. *Transbound. Emerg. Dis.* 55:14–34.

