

Prosedur Pemeriksaan Virus Avian Influenza

SEROLOGI : HI TEST

Bahan dan alat :

1. Virus AI standar 4 HAU
2. Suspensi sel darah merah ayam 0,5% dalam NaCl fisiologis (PBS pH 7.4)
3. Serum kebal AI
4. *Microplate U bottom*
5. Mikro Pipet 200 µl
6. Mikro tip

PROSEDUR (HI Test mikro titrasi)

Sumur 1-12 dari *microplate U bottom* diisi dengan suspensi virus standar (4 HAU) masing-masing 50 µl dengan mikropipet kapasitas 200 µl .

1. Ambil 50 µl serum yang akan diuji dan masukkan ke dalam sumur pertama. Lakukan pencampuran serum dengan suspensi virus di sumur pertama dengan cara mengambil dan mengeluarkan cairan tersebut dengan mikropipet, lakukan cara ini paling tidak lima kali (jangan sampai berbuih).
2. Ambil 50 µl dari sumur pertama kemudian pindahkan ke sumur ke dua dan lakukan pencampuran sama seperti tersebut di atas, selanjutnya pindahkan 50 µl ke sumur ke- 3, begitu seterusnya sampai sumur ke 12. Dari sumur ke-12 diambil 50 µl dan dibuang. .
3. Goyang-goyangkan *microplate* kemudian inkubasikan pada suhu ruang selama 15 menit.
4. Tambahkan 50 µl suspensi sel darah merah 0,5 % ke dalam seluruh sumur .

5. Goyang-goyangkan *microplate*, kemudian inkubasikan pada suhu ruang selama kurang lebih 30 menit, kemudian dibaca hasilnya.

PEMBACAAN HASIL

Pembacaan hasil uji dapat dilakukan apabila eritrosit pada tabung kontrol telah mengendap ke dasar sumur. Batas nilai titrasi adalah pengenceran tertinggi dari antibodi yang masih dapat menghambat aglutinasi dikalikan titer virus standarnya.

Titer antibodi dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$\text{Titer HI} = \text{end point} \times \text{HA unit virus standar yang digunakan.}$$

ISOLASI VIRUS AVIAN INFLUENZA

1. 1 ml suspensi *throat swab* + 1000 IU Penicillin + 1000 mcg Streptomycin
2. Inokulasi 0,2 ml pada telur berembrio umur 10-11 hari bebas vaksin AI secara *intra allantoic*
3. Inkubasi pada temperatur kamar selama ½ - 1 jam
4. Ambil cairan allantois 5-10 ml
5. Lakukan *passage* 2 kali lagi untuk menyatakan positif atau negatif
6. Lakukan uji hemaglutinasi atas cairan tersebut bila positif untuk menentukan kadar virus/antigen
7. Lakukan uji hambatan hemaglutinasi untuk menentukan tipe dari hasil isolasi terhadap antisera

Tabel 1. Diagram HI test

Reagen	Sumur ke :											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Virus standar	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Serum kebal AI	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
RBC 0,5% - 1%	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Pengenceran Ab*	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
Hasil	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Titer Ab	2	4	8	16	32	-	-	-	-	-	-	-

- = ada aglutinasi + = tidak ada aglutinasi

* Catatan: nilai pengenceran antibodi merupakan pengenceran dengan virus standar, penambahan suspensi RBC tidak dihitung sebagai pengenceran