

631.147(910)

SIM

P



PROSIDING

SIMPOSIUM NASIONAL BIOTEKNOLOGI 1991

Editor : Dr. I KOMANG WIARSA SARDJANA

UNIVERSITAS AIRLANGGA

Surabaya, 30 Nopember 1991

ANTIBODI MONOKLONAL VIRUS NEWCASTLE DISEASE STRAIN ITA
(VELOGENIC VISCERTROPIC NDV)

LIES PAREDE DAN RISA INDRIANI
Balai Penelitian Veteriner
Jl. R.E. Martadinata 32, BOGOR, 16114

ABSTRACT

Parede Lies and R. Indriani, 1991. Monoclonal antibodies against Newcastle disease virus strain ITA (velogenic viscerotropic NDV).

This paper described about a panel of monoclonal antibodies (MoAb) production to Newcastle disease virus (NDV) strain ITA and screening by indirect immunoperoxidase test (IIP). This panel of MoAbs was tested against 16 velogenic strains, one mesogenic strain and 14 lentogenic (vaccine) strains. This monoclonal antibody can be used to assist in pathotyping of NDV strains.

Key words: Monoclonal antibody, Newcastle disease virus, IIP test.

ABSTRAK

Parede Lies dan R. Indriani, 1991. Antibodi monoklonal virus Newcastle disease strain ITA (velogenic viscerotropic ndv).

Paper ini tentang produksi monoklonal (MoAb) terhadap virus ND strain ITA dan ditest dengan immunoperoksidase tak langsung (test IIP). Kumpulan MoAb ditest terhadap 16 strain ganas, satu strain mesogenic dan 14 strain lemah (strain vaksin). Antibodi monoklonal ini dapat digunakan untuk menentukan patotipe strain2 virus Newcastle disease.

Kata-kata kunci: Antibodi monoklonal, virus Newcastle disease, IIP test.

PENDAHULUAN

Virus Newcastle disease (NDV) digolongkan pada famili *Avian Paramyxoviridae* type 1 (A-PMV 1) dan berdasarkan keganasan pada induk semang, strain virus ini terbagi atas velogenic (sangat patogen), mesogenic dan lentogenic strain (sering digunakan sebagai vaksin).

Kerugian ekonomi disebabkan oleh virus ini yang dikenal dengan penyakit Tetelo sangatlah berarti sebab mortality rate dapat mencapai 100% pada peternak skala besar maupun kecil. Pengendalian penyakit ini dilakukan dengan program vaksinasi yang teratur dan evaluasi hasil vaksinasi dilakukan dengan uji serologi Hemagglutination Inhibition (HI) test.

Produksi MoAb dari berbagai strain ND (Unfer *et al.* 1986; Erdei *et al.* 1987; Meulemans *et al.* 1987; Nishikawa *et al.* 1987; Russell and Alexander 1983; Della-Porta 1988; Parede 1990) memungkinkan penggunaan uji yang lebih sensitive seperti ELISA untuk mendapat hasil yang lebih spesifik. Alexander *et al.* (1987)

mengklasifikasi strain2 NDV didalam 8 group berdasarkan reaksi MoAb terhadap virus ND, sedangkan Erdey *et al.* (1987) berhasil memproduksi MoAb yang spesifik hanya mengenal NDV strain LaSota.

Tulisan ini menyajikan reaksi panel MoAb yang diproduksi terhadap virus ND strain lokal yang ganas (VVNDV) yaitu NDV strain ITA terhadap berbagai macam virus ND yang diisolasi dari lapangan maupun virus vaksin yang beredar di Indonesia.

BAHAN DAN CARA

Hybridoma

Modifikasi metoda Zola (1988) dipakai untuk memproduksi Hybridoma terhadap virus ND strain ITA dan secara terperinci sudah dipublikasi (Parede dan Indriani 1991). Panel terdiri dari 8 monoclonal antibodi yang dihasilkan sesudah dua kali cloning. Supernatant yang dipakai pada test ini dan disimpan pada 4°C.

Virus

Isolat ND yang ditest berasal dari koleksi virus ND di Balitvet (Parede and Young, 1988), terdiri dari vaksin yang beredar di Indonesia dan juga isolat yang masuk pada bagian diagnostik Balitvet, 1991. Virus tersebut disuntikan pada ruang allantoik telur tertunas SPF (Vaksindo) umur 10 hari dan diperlakukan menurut metoda standar (Hanson 1980). Cairan allantoic yang dipanen disimpan di -70°C sampai diperlukan.

Uji imunoperoksidase tak langsung (Indirect immunoperoxidase Test/ IIP)

Metoda yang dipakai merupakan modifikasi dari Russel *et al.* (1983). Biakan sel selapis MDBK atau BHK-21 (pada microplate, 96 wells) diinkubasikan dengan 10^{-2} EID₅₀ NDV dari berbagai strain selama 24 jam, lalu difiksasi dengan 3% Formalin Normal buffer (NBF) selama 10 menit. Sel tersebut dicuci dengan PBS dan dapat langsung dipakai atau dapat disimpan pada 4°C sampai dibutuhkan.

Sebagai kontrol negatif dipakai biakan sel selapis MDBK atau BHK-21 yang tidak diinfeksi dengan virus ND.

Setiap supernatant dari hibridoma yang ditest dimasukan kedalam dua lubang @ 100 µl, diinkubasi 37°C, 30 menit, dicuci dengan PBS 3-4 kali, kemudian diberi @ 100 µl *goat anti mouse* yang dilabel dengan HRPD (Bio-Rad) (1:1000), diinkubasi 37°C, 30 menit. Dicuci dengan PBS 3-4 kali sebelum diberi *substrate* @ 100 µl (100 µl carbazole, 100 µl cairan tablet urea, 10 ml PBS). Cawan ini diinkubasikan 37°C selama 10 - 15 menit. Perubahan warna coklat kemerahan menunjukkan reaksi positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Reaksi positif berupa perubahan warna coklat kemerahan (Gambar 1 dan 2) dan reaksi negatif tidak berwarna (Gambar 3).

Reaksi pewarnaan juga tergantung dari strain virus ND dan MoAb yang direaksikan. Ada yang menyerupai granul merah (Gambar 1), ada yang berupa fusi dimana MoAb mewarnai sitoplasma sel raksasa (giant cells; Gambar 2). Hasil reaksi panel MoAb terhadap 31 isolat ND disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Reaksi panel Monoclonal antibodi dihasilkan dari virus ND ITA terhadap berbagai isolat virus ND.

NO	Kode isolate	pato Hibridoma type	Hibridoma							
			A1	A2	B1	C1	D1	D2	E1	E2
1	Ita pl3	VV	+	+	+	+	+	+	+	+
2	#9	V	+	+	+	+	+	+	+	+
3	#13	V	+	+	+	+	+	+	+	+
5	I 115	V	+	+	+	+	+	+	+	+
6	# 237	V	+	+	+	+	+	+	+	+
7	# 333	V	+	+	+	+	+	+	+	+
8	# 342	V	+	+	+	+	+	+	+	+
9	1101	V	+	+	+	+	+	+	+	+
10	1102	V	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Irja	V	+	+	+	+	+	+	+	+
12	I 234	V	+	+	+	+	+	+	+	+
13	I 236	V	+	+	+	+	+	+	+	+
14	I 337	V	+	+	+	+	+	+	+	+
15	I 53	M	+	+	+	+	+	+	+	+
16	S.baya	V	+	+	+	+	+	+	+	+
17	ND 3245	nc	+	+	+	+	+	+	+	+
18	#7	V	-	-	+	+	+	+	+	+
19	I 14	V	-	-	+	+	+	+	+	+
20	B1	L	-	-	-	-	+	-	+	+
21	B.dara 2	nc	-	-	-	-	+	-	+	+
22	V4	L	-	-	-	+	+	-	+	+
23	RIVS2	L	-	-	-	-	+	+	+	+
24	RIVS3	L	-	-	-	-	+	sp	+	sp
25	La Sota	L	-	-	+	-	+	+	+	+
26	Sotase:	L	-	-	-	-	sp	+	sp	sp
27	Pestos	L	-	-	-	-	+	sp	+	+
28	Salsb B1	L	-	-	-	-	+	sp	+	+
29	Delvax B1	L	-	-	-	-	sp	sp	+	+
30	Delv Isot	L	-	-	-	-	+	sp	+	+
31	B.dara 1	nc	-	-	-	-	+	+	sp	sp
32	F	L	-	-	-	-	+	-	-	-

+ = reaksi positif
 - = reaksi negatif
 sp = reaksi positif berupa spot area.
 nc = not classified for the pathogenicity index.

Dapat dilihat dari tabel 1 bahwa MoAb A1 dan A2 dapat dipakai membedakan virus ND ganas dari strain vaksin atau yang tidak ganas. Masih dirasakan perlu sebanyak mungkin isolat lapangan yang harus ditest guna menunjang hasil tersebut.

Antibodi monoklonal B1 dan C1 bereaksi dengan semua strain ganas tetapi masih mengenal LaSota dan V4. Hal ini dimungkinkan adanya *epitope site* strain LaSota yang dapat dikenal oleh MoAb B1 maupun *epitope site* strain V4 yang dikenal oleh MoAb C1 (Russell and Alexander 1983). Sebagai tambahan, MoAb A1, A2 dan B1 menunjukkan reaksi aglutinasi yang tinggi dengan virus ND strain IIA, tapi tidak dengan virus ND strain V4.

Antibodi monoklonal D1, E1 dan E2 bereaksi dengan semua strain yang diuji kecuali virus ND strain F. Hal ini dapat diterangkan bahwa MoAb bereaksi terhadap *common epitope site* dari virus ND.

Pemakaian panel MoAb dapat menunjang test produksi vaksin misalnya membuktikan produksi vaksin tidak terkontaminasi virus ND strain velogenic. Dengan memakai uji yang lebih sensitif seperti capture ataupun competitive ELISA, panel MoAb ini memungkinkan dipakai untuk mempelajari efikasi vaksin dengan memeriksa serum ayam sesudah vaksinasi.

Merupakan suatu tantangan untuk diuji lebih lanjut tentang kemungkinan seberapa jauh pengaruh lapangan, induk semang (host) maupun pasase terhadap mutasi virus ND, sehingga menghasilkan berbagai strain yang mempunyai sifat yang berbeda atau tidak identik dengan virus asal. Hal ini dapat menjelaskan pemilihan dan pemakaian vaksin yang tepat dan juga metode evaluasi hasil vaksinasi yang tepat.

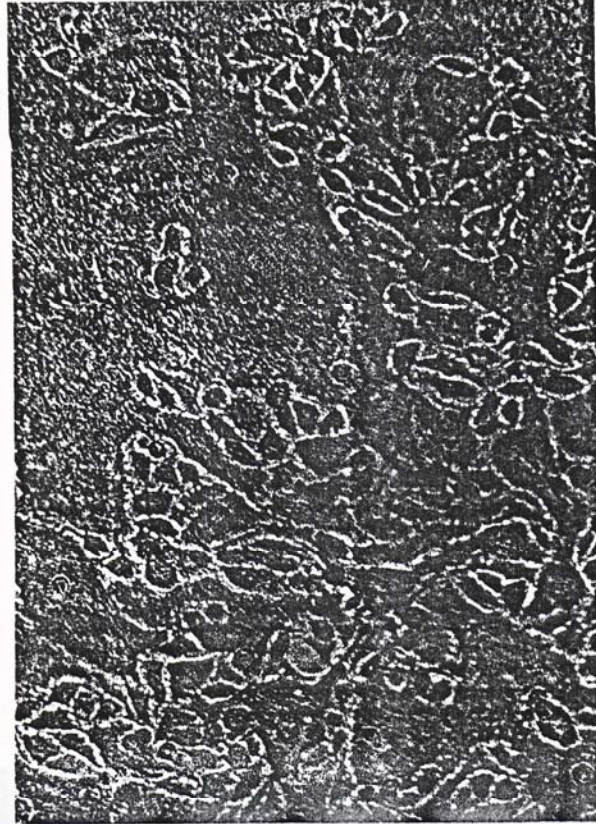
UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kerjasama Balitvet dan Proyek ACIAR PN8907 (Australia) yang telah membiayai penelitian ini, kepada Romindo yang memberikan 2 sampel vaksin, dan Prof.M. Partadiredja yang memberikan isolat Surabaya.

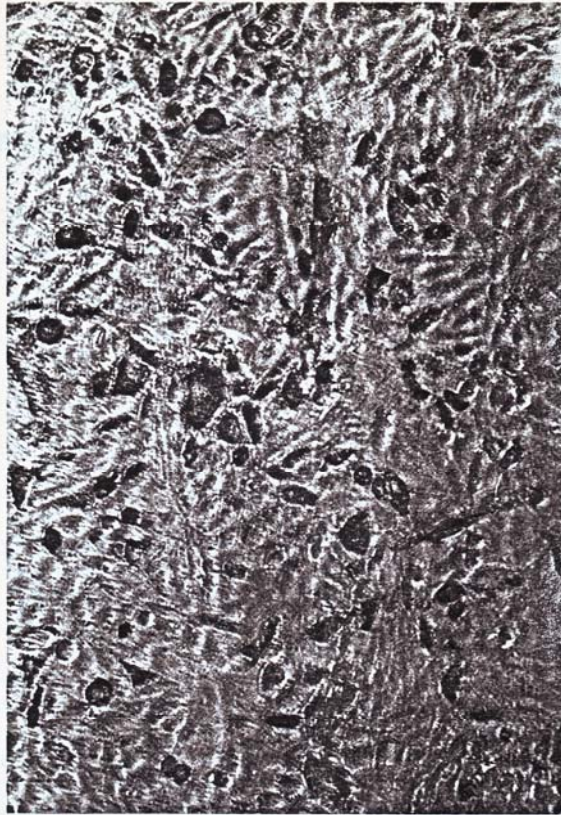
DAFTAR PUSTAKA

- ALEXANDER, D.J., R.J. MANVELL, P.A. KEMP, G. PARSONS, M.S. COLLINS, S. BROCKMAN, P.H. RUSSELL and S.A. LISTER. 1987. Use of monoclonal antibodies in the characterisation of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle Disease Virus) isolates submitted to an International reference Laboratory. *Avian Pathology* 16: 553-565.
- DELLA-PORTA, A.J., A. HYATT, E. HANSSON and J.R. WHITE. 1988. Application of monoclonal antibodies for Diagnosis Typing and pathogenesis Studies of Newcastle Disease Viruses. Post Graduate Committee in Veterinary Science, The University of Sydney in association with Australian Veterinary Poultry Association, *Poultry Disease Proceeding* 112: 483-490.

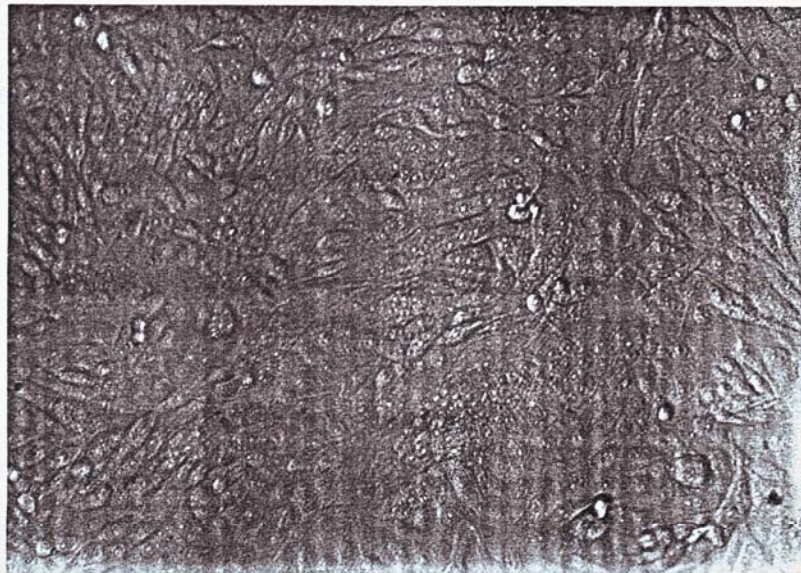
- ERDEI, J., J. ERDEI, K. BACHIR, E.F. KALETA, K. SHORTRIDGE and B. LOMNICZI. 1987. Newcastle disease vaccine (La Sota) strain specific monoclonal antibody. *Arch. Virol.* **96**: 265-269.
- HANSON, R.P. 1980. Newcastle disease. Isolation and identification of Avian Pathogens. 2nd ed; pp: 63-66. The American Association of the Avian Pathologists.
- MEULEMANS, G., M. GONZE, M.C. CARLIER, P. PETIT, A. BURNY and LE LONG. 1987. Evaluation of the use of the monoclonal antibodies to haemagglutinin and fusion glycoproteins of Newcastle disease virus for virus identification and strain differentiation purposes. *Arch. Virol.* **92**: 55-62.
- NISHIGAWA, K., S. ISOMURA, S. SUZUKI, E. WATANABE, H. HAMAGUCHI, K. YOSHIDA and Y. NAGAI. 1983. Monoclonal antibodies to the HN glycoprotein of Newcastle disease virus. Biological characterization and use for strain comparisons. *Virology* **130**: 313-330.
- PAREDE, L. and P.L. YOUNG. 1988. Isolasi dan identifikasi 21 isolate ND di Indonesia. FAVA conference in Bali, Indonesia.
- PAREDE, L. 1989. Monoclonal antibodies to NDV strain #3245; TropBio Co; James Cook University. Townsville, Q-4811. Australia.
- PAREDE, L. dan R. INDRIANI. 1991. Pembuatan antibodi monoklonal virus nd strain ita (velogenic viscerotropic ndv). *Penyakit Hewan* (in press).
- RUSSELL, P.H., P.C. GRIFFITH and M.J. CANNON. 1983. A microwell immuno-peroxidase test for screening hybridomas and for diagnosing Newcastle disease virus. *J. Immun. Methods* **61**: 165-170.
- RUSSELL, P.H. and D.J. ALEXANDER. 1983. Antigenic variation of Newcastle disease virus strains detected by monoclonal antibodies. *Arch. Virol.* **75**: 243-253.
- RUSSELL, P.H., P.C. GRIFFITH, K.K.A. GOSWAMI, D.J. ALEXANDER, M.J. CANNON. and W.C. RUSSELL. 1983. The characterization of monoclonal antibodies to NDV. *J. Gen. Virol.* **64**: 2069-2072.
- UNFER, R.C., R. DIACO. and D.P. DURAND. 1986. Antigenic characterization of the HN glycoprotein of Newcastle disease virus using monoclonal antibodies. Abstract of the Annual Meeting of the Microbiology Society; p-319.
- ZULA, H. 1987. Monoclonal antibodies. A manual of techniques. CRC Press. Boca Raton.



Gambar 1.



Gambar 2.



Gambar 3.