



Prinsip dan Teknik Pengambilan dan Pemeriksaan Spesimen Molekuler Campak-Rubela

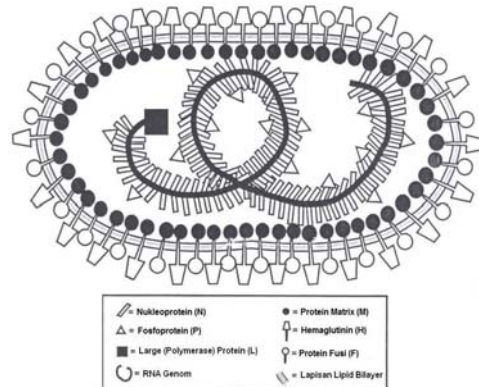
Pusat Kebijakan Sistem Ketahanan Kesehatan dan Sumber Daya Kesehatan
Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan

Pendahuluan

- Virus campak atau biasa disebut measles (dari bahasa latin, *Misellus* = *miserable* yang berarti menyedihkan)
- Rubeola (dari bahasa latin *Rubeolus* = *Reddish* yang berarti kemerahan)
- *Morbili* (dari bahasa latin *Morbus* yang berarti penyakit).

Struktur Virus Campak

- Virus campak termasuk familia paramyxovirus (Latin *myxa* = *Mucus*), genus Morbilivirus.
- Berbentuk sferik (bulat) dengan diselubungi *envelope* dengan ukuran diameter berkisar 100-200 nm



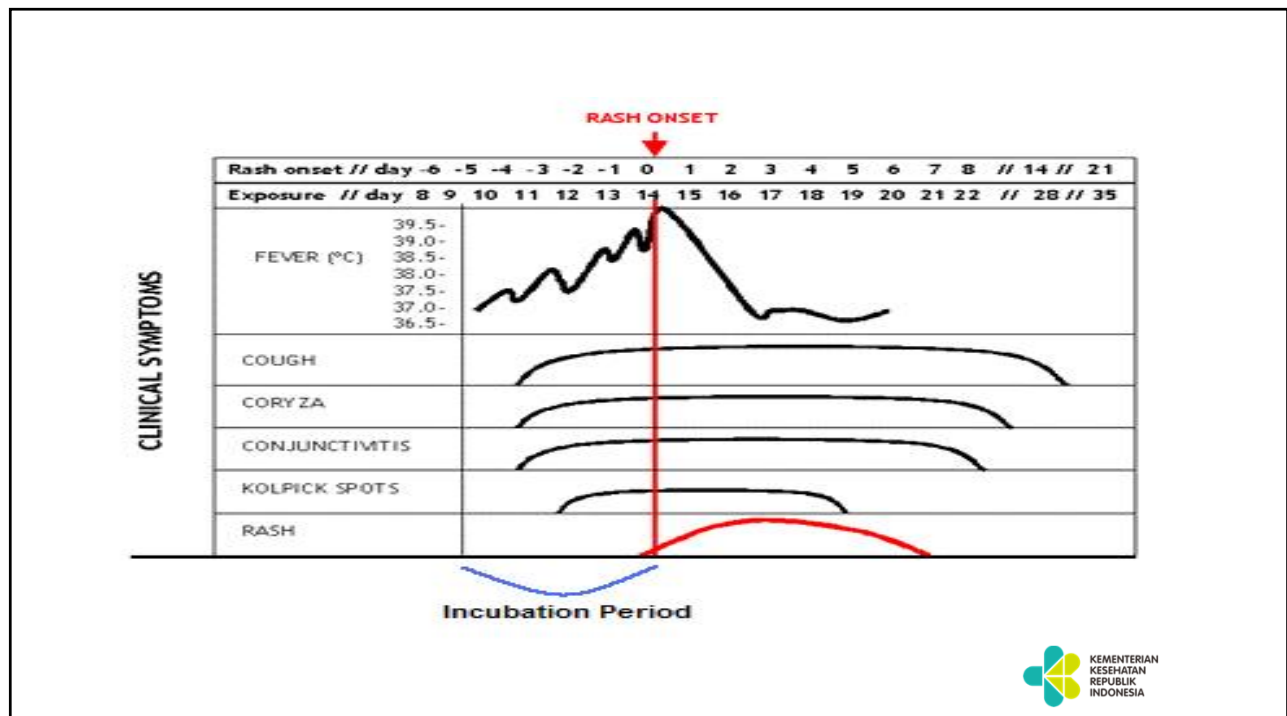
Aspek Klinis & Penularan

- Penyakit campak adalah penyakit yang sangat menular.
- Anak-anak yang belum mengalami vaksinasi sangat rentan terserang penyakit campak.
- Penyakit ini ditularkan melalui droplet, kontak langsung dengan sekret nasal dan sekret tenggorok penderita.
- Setelah menginfeksi, virus campak masuk ke dalam epitel saluran pernapasan dan menyebar ke pembuluh getah bening



Aspek Klinis & Penularan

- Masa penularan adalah 4 (empat) hari sebelum timbul rash sampai dengan 4 (empat) hari setelah timbul rash
- Masa Inkubasi: 7 – 18 hari, rata-rata 10 hari.
- Gejala Khas : Batuk / Pilek / konjungtivitis / Koplik Spot / Rash (Ruam)



Definisi Operasional (DO)

Suspek Campak-Rubela (Kasus Campak Klinis) :

Demam (panas) dan ruam (rash) disertai dengan salah satu atau lebih batuk, pilek atau mata merah.

Kasus Campak Konfirmasi (Konfirm Lab) :

Kasus Campak Klinis & Hasil Lab. Positif (Serologi IgM atau Molekuler/Isolasi Virus Positif)



Pemeriksaan Laboratorium untuk Diagnosa Campak/Rubella

1. Pemeriksaan Serologi (Deteksi Antibodi IgM & IgG)
Spesimen : Serum
2. Pemeriksaan Virologi (Molekuler / Isolasi Virus)
Spesimen : Urine atau Swab Tenggorok



Pemeriksaan Serologi IgM

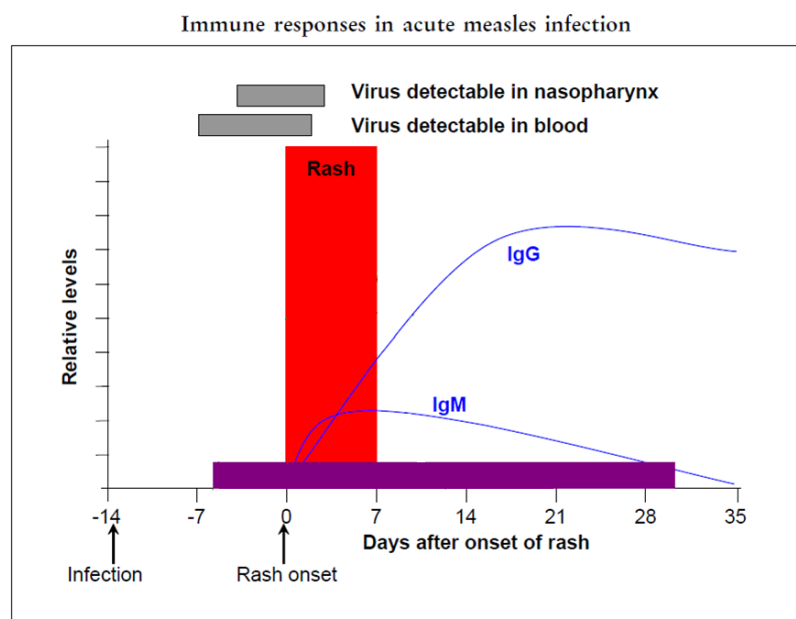
- **Sampel** : serum
- **Metode** : ELISA
- **Tujuan** : Mendeteksi adanya **antibodi spesifik IgM** campak

Waktu pengambilan :

IgM Optimal **4 – 28 hari setelah timbulnya rash.**



RESPON IMUN CAMPAK



Pemeriksaan IgM Campak

A. Hasil ELISA IgM campak positif :

1. 90% penderita **72 jam** setelah timbulnya rash,
2. 100% positif pd hari **ke-4 hingga 11** setelah timbulnya *rash*
3. setelah imunisasi campak (4-8 mg)
→ **perlu riwayat imunisasi campak**

B. Kemungkinan Hasil Negatif

30% bila sampel diambil dlm 3 hari pertama



Suspek campak (campak klinis)
dengan hasil lab. IgM [+],
tidak sedang mendapat imunisasi
(4 – 8 minggu yl)



DATA TANGGAL IMUNISASI !!!!



Pemeriksaan Virologi

Sampel : urine atau nasofaring swab atau Swab tenggorok

Metode : Molekuler PCR & isolasi virus

Tujuan :

- Identifikasi virus campak
- Pemeriksaan genotyping

Waktu pengambilan :

- Urine : 1- 5 hari setelah timbulnya rash
- Swab : 1- 5 hari setelah timbulnya rash



PENGAMBILAN SPESIMEN



Jenis spesimen untuk pemeriksaan campak/rubella

| No | Jenis Spesimen | Waktu pengambilan | Pemeriksaan |
|----|-------------------------------|----------------------|--|
| 1. | Darah/Serum | 4-28 hari sejak Rash | Serologi IgM Measles & Rubella |
| 2. | Urine | 0-5 hari sejak Rash | Isolasi virus, PCR Squencing Measles & Rubella |
| 3. | Throat swab / Nasofaring Swab | 0-5 hari sejak Rash | Isolasi virus, PCR Squencing Measles & Rubella |



Persiapan Peralatan Pengambilan

Urin

1. Container Steril spesimen Urine (Air kemih)
2. Plastik Klip

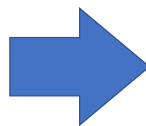


Pengambilan Spesimen Urin

1. Gunakan APD sesuai standar, lakukan pelabelan pada tabung/wadah spesimen sesuai dengan formulir MR01 (Variabel : Nama; Jenis Kelamin; Umur dan Tanggal ambil)
2. Persiapkan alat dan bahan yang diperlukan (Wadah Penampung Urine Steril)
3. Sebaiknya yang ditampung adalah urin pagi (setelah bangun tidur) dengan Teknik Aliran *MidStream*
4. Urine ditampung secara aseptis dengan volume 15 - 50ml (volume ideal urin adalah sebanyak $\frac{3}{4}$ dari wadah yang disediakan)
5. Segera disimpan dalam lemari es atau suhu 2-8°C, sebelum dilakukan pengiriman ke laboratorium rujukan



Pengambilan Spesimen Urin



Persiapan Peralatan Pengambilan

Usap Tenggorok

1. Parafilm
2. Virus Transpor Media (Hanks BSS atau sejenisnya)
3. Dacron swab
4. Penjepit Lidah (Tongue Spatel)
5. Label specimen



Alat/Bahan Pengambilan Swab/Usap

Swab :

- Steril
- Terbuat dari Rayon, Dacron
- Pabrikan

Tidak direkomendasikan :

- ❖ Swab Calcium Alginat
- ❖ Swab Kayu
- ❖ Swab Kapas
- ❖ "Handmade"

* Pemeriksaan dengan Metode Molekuler (PCR)



VTM (Virus Transport Medium)



VTM dalam keadaan Beku

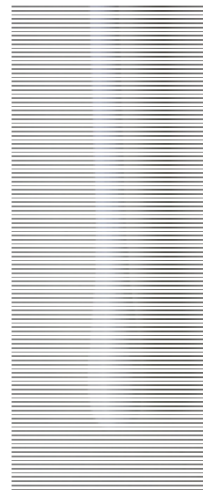
- Spesifikasi VTM sama dengan VTM yang digunakan untuk Pengambilan Spesimen COVID
- Pilih VTM yang tanpa Lysis Buffer (***BUKAN Inactivated virus***)



Alat/Bahan Pengambilan Spesimen



Swab Dacron/Rayon





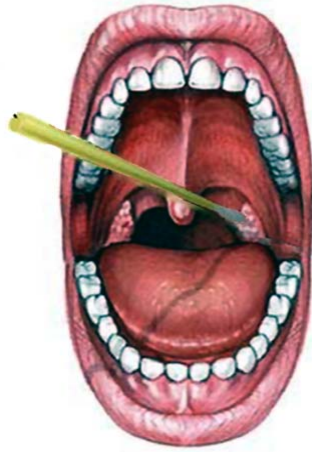
Posisi Pengambilan Spesimen Swab pada Anak-anak



Pengambilan Spesimen Usap Tenggorok

1. Gunakan APD sesuai standar
2. Persiapkan cryotube yang berisi 1,5 ml media transport virus (Hanks BSS atau sejenisnya), berikan label identitas pasien.
3. Gunakan swab yang terbuat dari Dacron/rayon steril dengan tangkai plastik.
4. Lakukan usap pada lokasi yang diduga terdapat koplak spot/bercak koplak (biasanya belakang pharynx) dan hindarkan menyentuh bagian lidah.



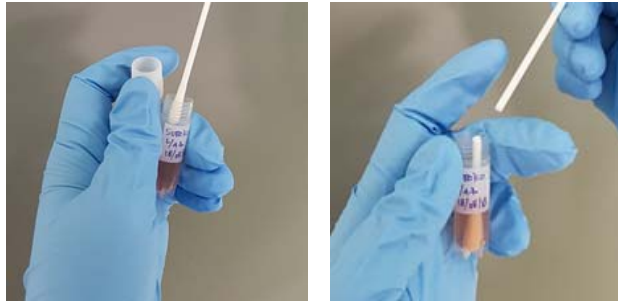


Pengambilan spesimen Usap Tenggorok



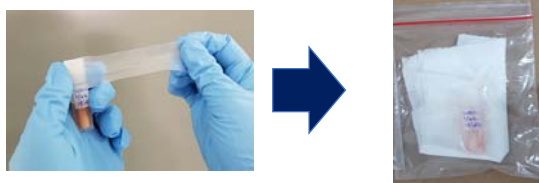
Pengambilan Spesimen Usap Tenggorok

5. Kemudian masukkan swab tenggorok sesegera mungkin ke dalam cryotube yang berisi virus transport medium.
6. Putuskan tangkai plastik di daerah mulut cryotube agar cryotube dapat ditutup dengan rapat.



Pengambilan Spesimen Usap Tenggorok

7. Cryotube kemudian dililit parafilm.
8. Cryotube yang sudah berisi swab dibungkus dalam tissue bersih lalu dimasukkan ke dalam plastik klip.



7. Simpan dalam suhu 4-8°C sebelum dikirim. **Jangan dibekukan dalam Freezer.**



PENGEPAKAN/PENGIRIMAN

1. Masukkan seluruh spesimen dimasukkan ke dalam cool box yang berisi Ice pack yang terlebih dahulu dibekukan.
2. Ice packs sebaiknya ditempatkan pada sisi kiri-kanan (ditambahkan juga bagian atas-bawah jika memungkinkan).
3. Harus dapat dipastikan bahwa spesimen tetap terjaga kondisi suhunya tetap dingin saat diterima di laboratorium



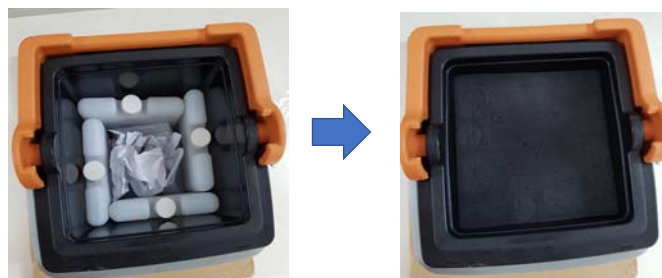
PENGEPAKAN/PENGIRIMAN

4. Jangan lupa masukkan juga formulir kuisisioner yang telah diisi dan diberi label kedalam cool box dengan terlebih dahulu dimasukkan dalam wadah plastik



PENGEPAKAN/PENGIRIMAN

5. Ke dalam cool box juga bisa dimasukkan kertas pengganjal (bisa berupa kertas koran yang diremas remas). Kemudian ditutup.



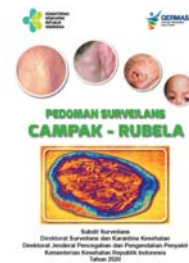
PENGEPAKAN/PENGIRIMAN

6. Tutup Cool box dengan selotip dan beri label pada sisi kanan dan atau kiri cool box, yang ditujukan ke Laboratorium rujukan.



Penyimpanan dan Pengiriman Spesimen

- Petugas puskesmas mengambil spesimen serum dan memasukkan kedalam tabung yang telah diberi label: nama, umur dan tanggal ambil. Spesimen serum diambil maksimum pada hari ke-28 dari tanggal ruam.
- Simpan spesimen serum ke dalam refrigerator dengan suhu 2-8 °C, dan dikirim ke kabupaten/kota/provinsi setiap Senin dan Kamis disertai form MR-01.
- Spesimen urin dikirim ke laboratorium dengan suhu 2-8 °C dalam waktu 1x24 jam setelah pengambilan.



Definisi Operasional

Spesimen adekuat untuk serologi adalah serum yang dikumpulkan dalam rentang waktu 28 hari setelah onset ruam dengan volume $\geq 0,5$ mL dan diterima di laboratorium dalam kondisi dingin dengan rentang waktu 5 hari sejak pengambilan.

Spesimen adekuat untuk virologi adalah urin atau usap tenggorok (dalam VTM) yang diambil dalam rentang waktu 0-5 hari setelah onset ruam dan diterima di laboratorium dalam kondisi dingin dengan rentang waktu 5 hari sejak pengambilan.



Pengambilan Spesimen Virologi / Molekuler

Kebijakan Surveilans Campak-Rubela

1. Melaksanakan surveilans demam dan ruam *maculopapular* untuk penemuan kasus suspek campak-rubela;
2. Mencapai *discarded rate* campak-rubela $\geq 2/100.000$ penduduk yang merata di setiap kabupaten/kota setiap tahun dan mempertahankannya;
3. Mencapai konfirmasi laboratorium terhadap kasus suspek campak (*Case Based Measles Surveillance/ CBMS*) 100% setiap tahun dan mempertahankannya;
4. Setiap kasus suspek campak dilakukan penyelidikan epidemiologi dalam 2 x 24 jam;
5. Setiap KLB suspek campak dilakukan penyelidikan epidemiologi menyeluruh (*fully investigated*) dalam 2 x 24 jam;
6. Melakukan pengambilan spesimen urin minimal 1 kasus per kab/kota/tahun.



Pengambilan Spesimen Virologi / Molekuler

Penyelidikan Epidemiologi KLB

Penyelidikan KLB suspek campak-rubela bertujuan untuk mengetahui besarnya masalah dan gambaran epidemiologi KLB berdasarkan orang, tempat, dan waktu. Informasi ini berguna untuk mengambil keputusan dalam penanggulangan dan pengendalian KLB.

Setiap KLB suspek campak-rubela dilakukan investigasi menyeluruh (**fully investigated**), yaitu :

- a. Penyelidikan dari rumah ke rumah
- b. Mencatat kasus secara individu (individual record) menggunakan Form MR-01
- c. Mengambil 10 spesimen serum dan 5 spesimen urin. Jika kasus suspek campak-rubela tersebut <10, maka semua kasus diambil serumnya.



INDIKATOR KINERJA CAMPAK/RUBELLA

Indikator Kinerja

- a. Rutin :
 - *Discarded rate* (kasus bukan campak dan bukan rubela) secara nasional $\geq 2/100.000$ penduduk
 - Persentase kabupaten/kota melaporkan *discarded rate* (kasus bukan campak dan bukan rubela) $\geq 2/100.000$ penduduk $\geq 80\%$
 - Kasus suspek campak yang diinvestigasi adekuat (< 48 jam) $\geq 80\%$
 - Kasus suspek campak-rubela yang diperiksa IgM $\geq 80\%$
 - Kelengkapan Laporan Puskesmas (MR-01) $\geq 90\%$
 - Ketepatan Laporan Puskesmas (MR-01) $\geq 80\%$
 - Kelengkapan Laporan Surveilans Aktif Rumah Sakit $\geq 90\%$
 - Spesimen Adekuat untuk pemeriksaan IgM $\geq 80\%$
 - Spesimen Adekuat untuk pemeriksaan virologi $\geq 80\%$



**INDIKATOR KINERJA
CAMPAK/RUBELLA**

b. KLB :

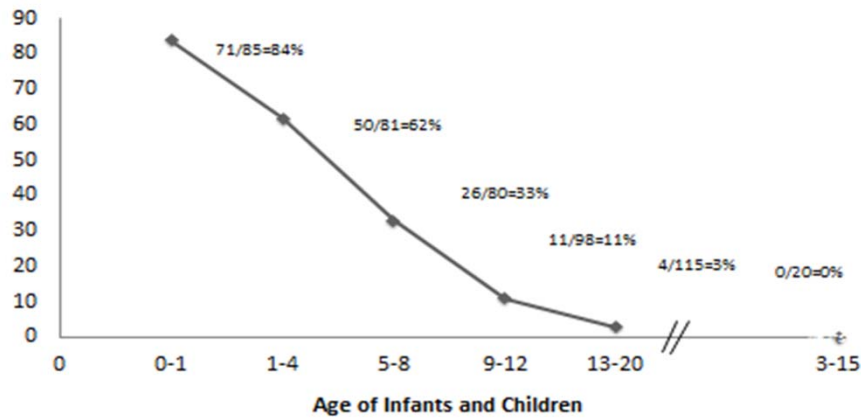
- Kelengkapan Laporan MR-KLB $\geq 90\%$
- KLB dilakukan Investigasi menyeluruh (*fully investigated*) 100%
- KLB dilakukan investigasi < 48 jam $\geq 80\%$
- KLB suspek campak yang diperiksa virologi $\geq 80\%$

**Pengambilan spesimen CRS**

- Serum untuk pemeriksaan IgM dan IgG
- Urine dan swab tenggorok untuk isolasi virus
- Penanganan sama dengan spesimen campak
- Laboratorium sama dg lab campak



Incidence of Virus Excretion by Age in Infants and Children with CRS



Arch. Ophth. 71:454,1967



% Viral Excretion

Virus bisa ditemukan di sekret nasofaring :

- Usia 1 bln : 80%
- Usia 1 – 4 bln : 62 %
- Usia 5 – 8 bln : 33 %
- Usia 9 – 12 bln : 11 %
- Usia > 12 bln : 3%. (Cooper 1967)

Bayi dengan CRS yang mengekskresikan virus rubella dapat menularkan penyakitnya (bersifat infeksius) sehingga tindakan pencegahan infeksi yang memadai harus selalu dilakukan



Imunologi

IgM spesifik rubella pada bayi dengan CRS :

- Umur 0 – 5 bulan = 100%
 - Umur 6 – 12 bulan = 60%
 - Umur 12 – 18 bulan = 40%
 - Umur >18 bulan , jarang ditemukan IgM
- (Chantler et al. 1982).



Immune Response to Rubella Infection in Mother and Child

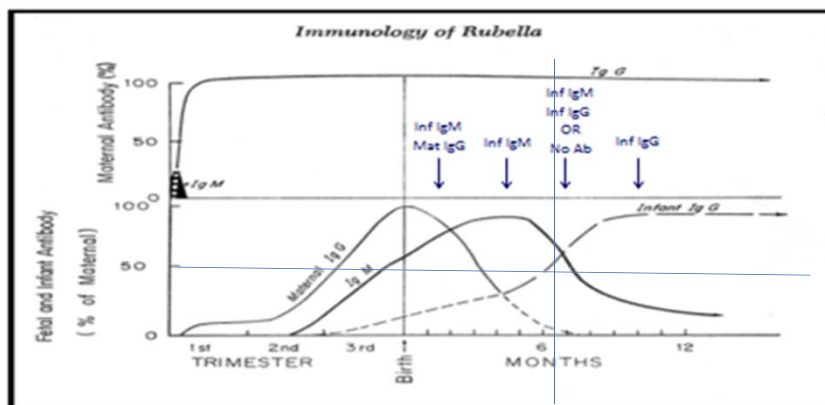


TABLE 2 Timing of biological markers of rubella virus infection^a

| Diagnostic criterion | Convenient time when many cases are positive (%) | An example of a time when >90% of cases are positive | Approx time for 50% decline ^b |
|---|--|--|--|
| Postnatal rubella | | | |
| Virus in throat by culture ^e | Day of rash (90%) | 2 days before rash | 4 days after rash |
| IgM in serum by ELISA ^c | Day of rash (50%) | 5 days after rash | 6 wk after rash |
| IgG in serum by ELISA | 3 days after rash (50%) | 8 days after rash | Lifetime |
| Virus in blood by culture ^d | Day of rash (50%) | 5 days before rash | 1 day after rash |
| CRS ^e | | | |
| Virus in throat by culture | At birth (almost all) | 2 wk after birth | 3 mo of age |
| IgM in serum by ELISA | At birth (80%) | 1 mo of age | 6 mo of age |
| IgG in serum by ELISA ^f | | | |

^a Times and percentages given are approximate and are meant to guide typical specimen collection. Percentages vary depending on the sensitivity of the assay used. Note that the times listed in the third column were chosen to help guide specimen collection and may not be the earliest time when >90% of cases are positive.

^b After maximum number of cases are positive for a given criterion, the approximate time for 50% of cases to become negative.

^c "Alternative" specimens, oral mucosal transudate (OMT) and dried blood spot (DBS), have been evaluated for detection of virus (OMT) and IgM (OMT, DBS). See references 47 and 126-128.

^d Data taken from reference 130.

^e Information given is for fetal infection in the first trimester.

^f Declining maternal IgG and developing IgG response in a CRS patient lead to high (steady) or increasing IgG levels in the CRS patient through the first year of life.

Manual of Clinical Microbiology. Measles and Rubella. 11th Edition 2015



HASIL PEMERIKSAAN LABORATORIUM



Waktu Pemeriksaan Lab.

- Serologi (ELISA) = **4 Hari** setelah diterima di Lab.
- Virologi (Molekuler/Isolasi Virus) = **1-2 Bulan** setelah diterima di Lab



Hasil Pemeriksaan Laboratorium

| Agen | Hasil Lab. | Interpretasi Laboratoris | Interpretasi Klinis |
|--------|------------------------|--|--|
| Campak | Positif | Terdapat IgM Campak di dalam serum penderita | Pasien konfirmasi terinfeksi Campak |
| | Negatif | Tidak Terdapat IgM Campak di dalam serum penderita | Pasien tidak terinfeksi Campak |
| | Equivokal / Borderline | Kemungkinan terdapat IgM Campak di dalam serum penderita dengan kadar rendah Atau Serum penderita terdapat protein yang mirip IgM Campak | Pasien tidak dapat ditentukan telah terinfeksi oleh virus Campak. Spesimen kedua sebaiknya diperoleh dan diuji konfirmasi, Jika tidak ada spesimen kedua, maka hasil dikategorikan sebagai Negatif. |



Hasil Pemeriksaan Laboratorium

| Agen | Hasil Lab. | Interpretasi Laboratoris | Interpretasi Klinis |
|---------|------------------------|--|--|
| Rubella | Positif | Terdapat IgM Rubella di dalam serum penderita | Pasien konfirmasi terinfeksi Rubella |
| | Negatif | Tidak Terdapat IgM Rubella di dalam serum penderita | Pasien tidak terinfeksi Rubella |
| | Equivokal / Borderline | Kemungkinan terdapat IgM Rubella di dalam serum penderita dengan kadar rendah Atau Serum penderita terdapat protein yang mirip IgM Rubella | Pasien tidak dapat ditentukan telah terinfeksi oleh virus Rubella. Spesimen kedua harus diperoleh dan diuji konfirmasi, Jika tidak ada spesimen kedua, maka hasil dikategorikan sebagai Negatif. |

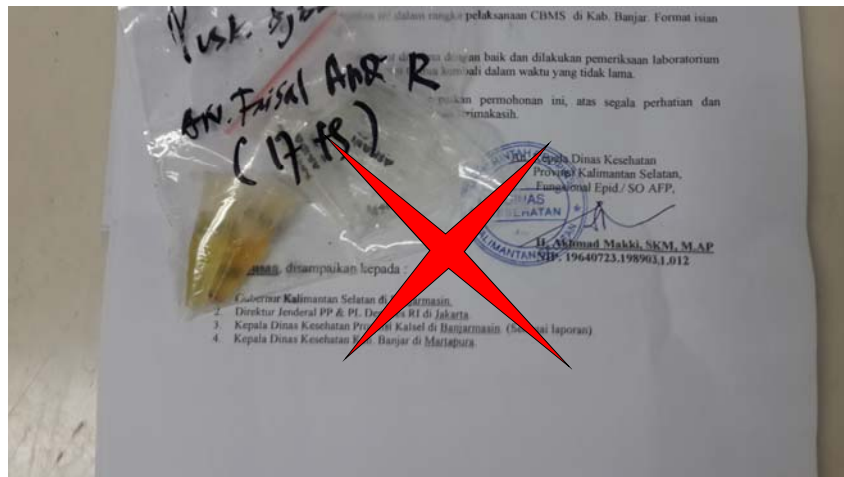


Hasil Pemeriksaan Laboratorium

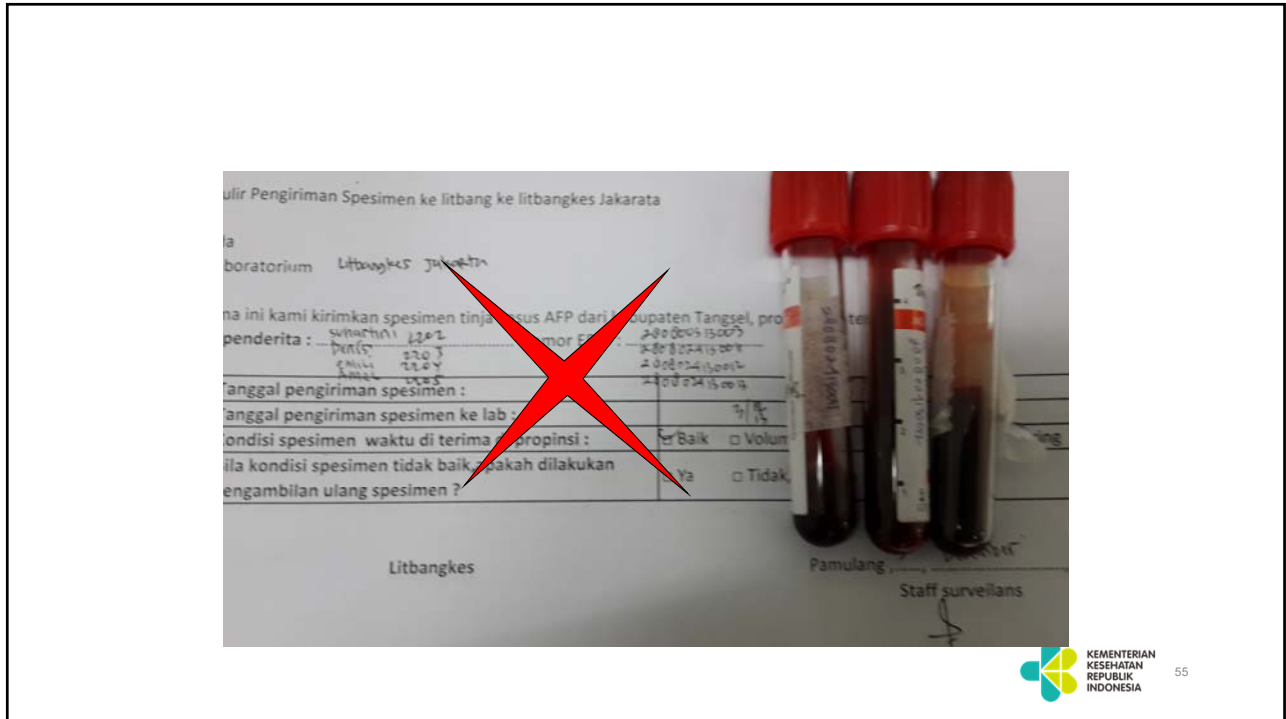
| Agen | Hasil Laboratorium | Interpretasi Laboratoris | Interpretasi Klinis |
|---------|--------------------|---|--------------------------------------|
| Campak | Positif | Spesimen mengandung substansi genetik virus Campak | Pasien konfirmasi terinfeksi Campak |
| | Negatif | Spesimen tidak mengandung substansi genetik virus Campak | Pasien tidak terinfeksi Campak |
| Rubella | Positif | Spesimen mengandung substansi genetik virus Rubella | Pasien konfirmasi terinfeksi Rubella |
| | Negatif | Spesimen tidak mengandung substansi genetik virus Rubella | Pasien tidak terinfeksi Rubella |



DISKUSI











Terima Kasih