

GAMBARAN ANTI HBc POSITIF PADA DONOR DARAH DENGAN HbsAG NEGATIF

Susila Sastri

Kepala Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
E-mail : susila_sastri@yahoo.com

Abstrak

Pemeriksaan HBsAg saja untuk skrining hepatitis B (HBV) belum dapat menjamin donor darah bebas dari HBV sehingga darah donor belum memenuhi persyaratan untuk ditransfusikan. Darah donor yang akan ditransfusikan hendaklah memenuhi syarat diantaranya donor tidak pernah menderita HBV. Skrining darah donor terhadap HBV pada PMI hanya dengan uji HBsAg saja dimana HBsAg akan negatif pada stadium HBV tertentu, pada hal donor menderita atau dalam masa penyembuhan HBV. Anti-HBc dapat memberi informasi tentang perjalanan HBV bila digabungkan dengan *marker* HBV lain dan anti-HBc bertahan lebih lama dalam darah dibandingkan dengan *marker* lain. Donor darah HBsAg negatif dengan anti-HBc positif dari beberapa penelitian terdahulu masih ada yang mengandung HBV-DNA dan dapat menularkan HBV.

Telah dilakukan penelitian terhadap donor darah dengan melakukan uji anti-HBc secara deskriptif terhadap donor darah dengan HBsAg negatif (n=100) pada UTD PMI Cabang Padang secara *cross sectional study*. Sampel diambil secara *proportional random sampling*. Darah sampel adalah darah HBsAg negatif dengan VDRL, HVC, HIV negatif, semuanya diperiksa dengan ELISA. Tujuan penelitian untuk melihat gambaran anti-HBc positif pada donor darah dengan HBsAg negatif dan melihat hubungan antara indeks HBsAg dengan indeks anti-HBc. Pemeriksaan anti-HBc dilakukan dengan ELISA, alat dan reagen keluaran yang sama.

Hasil penelitian menunjukkan frekuensi anti-HBc positif pada donor darah dengan HBsAg negatif sebanyak 27%, terutama pada laki-laki berumur antara 20-29 tahun (44,4%). Terdapat korelasi positif antara indeks HBsAg negatif dengan indeks anti-HBc ($r = 0,02$). Anti-HBc positif banyak ditemukan pada indeks HBsAg negatif 0,21-0,60 (76%).

Kesimpulan, darah donor dengan HBsAg negatif yang selama ini dianggap aman untuk transfusi terbukti masih mungkin menularkan HBV dengan ditemukannya anti-HBc yang positif. Karena itu perlu pemeriksaan lanjutan DNA HBV pada donor darah dengan HbsAg negatif dan antiHbc positif untuk memastikan darah donor tersebut tidak boleh ditransfusikan.

Kata kunci: Skrining, HBV, HBsAg, Anti-HBc, donor darah

Abstract

HBsAg examination alone to screen for hepatitis B (HBV) has not been able to guarantee freedom from HBV blood donor so that blood donors have not

fulfilled the requirements to be transfused. Blood donors will be transfused donors should qualify them have never suffered from HBV. Screening of blood donors against HBV in the PMI only with HBsAg alone where the HBsAg test is negative at certain stages of HBV, in terms of donors suffering or recovering in HBV. Anti-HBc can provide information on HBV trip when combined with other HBV markers and anti-HBc last longer in the blood compared with other markers. HBsAg negative blood donors with anti-HBc positive than some previous research is still exist that contain HBV-DNA and can transmit HBV.

Has done research on blood donors with anti-HBc test descriptively against HBsAg negative blood donors (n = 100) on the UTD PMI Branch of Padang in cross sectional study. Samples taken by proportional random sampling. Blood samples were HBsAg negative blood VDRL, HCV, HIV negative, all examined by the ELISA. The aim is to see the picture of positive anti-HBc in blood donors with HBsAg negative and look at the relationship between the index of HBsAg with anti-HBc index. Examination of anti-HBc by ELISA, equipment and reagents the same output. The results showed the frequency of positive anti-HBc in HBsAg negative blood donors by 27%, especially in men aged between 20-29 years (44.4%). There is a positive correlation between the index of negative HBsAg with anti-HBc index ($r = 0.02$). Anti-HBc positive are found in HBsAg negative index of 0.21 to 0.60 (76%). In conclusion, blood donors with negative HBsAg have been considered safe for transfusion is still likely to transmit HBV proven by the discovery of anti-HBc positive. Because it needs a further examination of HBV DNA in blood donors with HBsAg negative and positive antiHbc to ensure donor blood should not be transfused.

Key words: screening, HBV, HBsAg, Anti-HBc, blood donors

Pendahuluan

Transfusi darah memegang peran penting dalam menyelamatkan pasien yang mengalami kekurangan darah. Namun pada saat yang sama transfusi darah juga dapat berperan sebagai media yang potensial untuk menularkan penyakit. Salah satu penyakit yang dapat menular melalui transfusi darah adalah hepatitis B (HBV).⁽¹⁻³⁾ Untuk mencegah penularan penyakit yang ditularkan melalui darah Indonesia umumnya melakukan skrining terhadap HBV, HCV, HIV dan VDRL, bila hasil uji negatif maka darah tersebut dianggap layak untuk ditransfusikan.

Untuk mencegah penularan HBV melalui transfusi darah, Indonesia umumnya memberlakukan standar pemeriksaan *hepatitis B surface antigen* negatif (HbsAg -) untuk skrining terhadap HBV. Pada fase *window period*, fase *recovery*, *occult hepatitis B* (OHB) (Akahane, *et al.*, 2002 Allain, J P, 2004) dan post infeksi jumlah antigen (HBsAg) lebih sedikit, pemeriksaan HBsAg menunjukkan hasil negatif, padahal pada fase ini masih terdapat HBV.^(4,5)

Banyak peneliti menemukan infeksi HBV setelah transfusi darah dengan penyaringan HBsAg saja atau HBsAg negatif, diantaranya di India sebanyak 14,6%,⁽⁶⁾ di Inggris 0,57%⁽⁷⁾ dan sebanyak 12% pasien dengan HBsAg negatif menderita *post transfusion hepatitis* setelah operasi jantung.⁽⁸⁾ Di Taiwan skrining HBV dengan HBsAg saja menyebabkan infeksi HBV setelah transfusi sebanyak 200 (20%) setiap 1000 donor darah.⁽⁹⁾

Melakukan pemeriksaan tambahan yang memadai menjadi kebutuhan sebagai upaya mengurangi risiko penularan HBV. Salah satu

pemeriksaan tambahan yang mungkin dilakukan adalah pemeriksaan *antibodi terhadap antigen HBV-core* (anti-HBc).⁽¹⁰⁾ Gabungan pemeriksaan HBsAg dan anti-HBc dapat mendeteksi penyakit HBV setelah HBsAg negatif dan sampai masa penyembuhan dan sesudahnya.⁽¹¹⁾

Menurut WHO, wilayah Indonesia, termasuk Sumatra, adalah daerah endemik hepatitis B.⁽¹²⁾

Data dari Unit Transfusi Darah Palang Merah Indonesia (UTD PMI) cabang Padang pada tahun 2005 memperlihatkan hanya 591 orang (3,15%) dari 18.773 donor darah sukarela dan donor pengganti dengan HBsAg positif. Jadi lebih dari 90% donor darah berdasarkan standar pemeriksaan yang berlaku masuk dalam kategori bebas dari kemungkinan menularkan penyakit HBV karena memiliki pemeriksaan HBsAg yang negatif.

Berdasarkan hal diatas perlu dilakukan suatu penelitian yang mengkaji seberapa jauh donor darah yang dianggap bebas HBV (HBsAg negatif) yang masih mungkin dapat menularkan HBV, melalui pemeriksaan tambahan anti-HBc. Hal ini tidak hanya menjadi kebutuhan buat menambah pengetahuan akademis, tetapi diperlukan juga sebagai bahan penyusunan kebijakan pelayanan kesehatan, terutama kebijakan untuk mengatasi masalah penularan HBV.

Metode Penelitian

Penelitian deskriptiv secara *crosssectional study* setelah dapat izin penelitian dari masing-masing laboratorium dan lolos *ethical clearance*. Jumlah sampel sebanyak 100 orang (CV; 95%). Sampel adalah donor darah yang sudah lolos skrining pada UTD PMI cabang Padang yaitu

donor dengan hasil pemeriksaan HbsAg-, HCV-, HIV-, VDRL-. Darah yang dijadikan sebagai bahan penelitian adalah darah sisa dari skrining rutin pada PMI dan darah yang dipilih adalah darah lolos skrining dengan indeks HbsAg – berada pada persentil 20 dari nilai titer indeks HBAg negatif. Sampel dikumpul sampai jumlah yang diinginkan dan disimpan pada suhu -20°C.

Anti-HBc diperiksa dengan metode ELISA memakai reagensia *Hepanostika Anti-HbcUltra (Micro ELISA System)* keluaran Biomeriux. Alat ELISA yang dipergunakan merek Biomeriux di Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Dr. M. Djamil Padang. Sebelum pemeriksaan dilakukan kalibrasi alat secara computerize.

Hasil Penelitian Dan Pembahasan

Donor darah yang terpilih sebagai sampel mayoritas adalah laki-laki sebanyak 92%. Umur sampel bervariasi mulai dari umur 18 tahun sampai umur 64 tahun. Rerata dari umur adalah 31,37 tahun dengan simpangan baku 11,10.

1. Indeks HBsAg Negatif

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Indeks HBsAg Negatif pada Donor Darah di UTD PMI Cabang Padang

Indeks HBsAg	Frekuensi	%
<0,20	1	1,0
0,21-0,40	43	43,0
0,41-0,60	33	33,0
0,61-0,80	17	17,0
>0,80	6	6,0
Total	100	100,0

Indeks HBsAg negatif pada sampel yang terpilih paling banyak pada

indeks 0,21-0,40 yaitu sebanyak 43%, diikuti oleh HBsAg negatif pada indeks 0,41-0,60 sebanyak 33%. Indeks HBsAg negatif sampel 76% pada indeks 0,21-0,60.

2. Gambaran Indeks Anti-HBc Positif

Nilai rerata indeks anti-HBc 1,61 dengan simpangan baku (SD) 0,88. Nilai indeks anti-HBc paling rendah 0,0 dan paling tinggi 2,47. Frekuensi indeks anti-HBc paling banyak pada indeks anti-HBc 2-2,49 sedangkan indeks anti-HBc positif yang ditemukan sebanyak 27% yaitu (indeks anti-HBc 0,0-0,99).

Tabel 2. Distribusi Frekuensi Indeks Anti-HBc pada Donor Darah HBsAg Negatif di UTD PMI Cabang Padang

Indeks Anti-HBc	Jumlah	%
0,0-0,49	23	23,0
0,5-0,99	4	4,0
1,0-1,49	1	1,0
1,5-1,99	16	16,0
2,0-2,49	56	56,0
Total	100	100,0

Indeks anti-HBc positif bila nilai indeks pada pemeriksaan < 1, pada penelitian ini terdapat 27 donor darah HBsAg negatif yang mempunyai uji anti-HBc positif. Jadi setiap 100 orang donor darah HBsAg negatif yang berada pada persentil 20 dari indeks HBsAg negatif tertinggi atau mulai dari *cut off point*.

Uji korelasi antara indeks HBsAg dengan indeks Anti-HBc memperlihatkan koefisien korelasi (r) dengan nilai $r = 0,02$, hal ini menunjukkan terdapat hubungan antara nilai indeks anti-HBc dengan indeks HBsAg negatif tetapi tidak

bermakna sedangkan Yugi dkk pada tahun 2006 dengan memeriksa 463 donor darah dengan HBsAg negatif dan diantaranya terdapat 143 dengan HBV DNA, menemukan adanya korelasi antara titer anti-HBc dan HBV DNA dimana makin tinggi titer anti-HBc maka makin banyak jumlah HBV DNA.⁽¹³⁾

Perbedaan ini mungkin disebabkan adanya perbedaan pada pengambilan sampel, dimana Yugi memeriksa semua populasi sedangkan pada penelitian ini sampel yang diambil adalah sampel yang berada pada persentil 20 dari titik *cut off point* dari indeks HBsAg negatif dan jumlah sampel lebih sedikit.

Anti-HBc positif menunjukkan bahwa donor darah tersebut mungkin berada pada masa *window period*, *recovery*, *occult* HBV atau sebelumnya pernah menderita infeksi HBV. Indeks anti-HBc positif pada 100 orang donor darah dengan HbsAg negatif ditemukan pada penelitian ini sebanyak 27 orang. Hal ini menunjukkan bahwa di antara donor darah yang sudah dianggap aman dari infeksi HBV ternyata 27 dari setiap 100 donor darah yang berada pada persentil 20 dari nilai *cut off point* indeks HBsAg negatif, pernah menderita HBV.

Terdapatnya anti-HBc positif pada donor darah dengan HBsAg negatif menunjukkan pada donor tersebut masih terdapat antibodi yang diinduksi oleh protein HBV bagian inti yaitu HBcAg. HBcAg sendiri merupakan immunogen kuat yang dapat menginduksi sel B tanpa melalui sel T (*independent T cell*) dan sel B yang sudah aktif tanpa melalui sel T. Pembentukan anti-HBc dengan cara ini tidak dapat menghasilkan sel memori dimana ini berguna untuk mengenal kembali HBcAg pada paparan berikutnya. Disamping itu

anti-HBc sebagai antibodi tidak bisa menetralisasi HBcAg karena satu dari dua epitop HBcAg tersembunyi (*cryptic*) yang menyebabkan anti-HBc tidak dapat mengenal anti-HBc.⁽¹⁴⁾ Kedua faktor diatas menyebabkan antigen HBcAg dalam darah susah dibersihkan dan dapat bertahan dalam jangka waktu lama dalam darah.

Terdapatnya *previlage site* dalam tubuh donor yang pernah terinfeksi, di mana pada lokasi ini respon imun sangat rendah bahkan tidak ada sehingga HBV dapat bertahan dan potensial untuk aktif kembali.⁽¹⁵⁾ Beberapa peneliti sebelumnya melaporkan terdapatnya HBV-DNA pada jaringan selain hepar (*ektrahepatik*) dan tempat ini dapat pula sebagai sumber antigen HBV termasuk HBcAg, yang merupakan salah satu faktor lain menetapnya anti-HBc dalam darah. Replikasi HBV tetap terjadi dalam jumlah kecil pada sebahagian donor dengan HBsAg negatif dan anti-HBc positif.⁽¹⁶⁾

Pada penelitian ini anti-HBc positif hanya ditemukan pada donor darah laki-laki saja, kemungkinan hal ini karena pengambilan sampel secara proporsional berdasarkan indeks HBsAg sehingga mayoritas sampel yang terpilih adalah laki-laki (92%). Hal ini juga sesuai dengan porsi jumlah donor wanita pada UTD PMI cabang Padang pada tahun 2005 hanya 1533 sedangkan laki-laki 17.240. (Gracia, A L, 2006).

Umur donor darah yang banyak mempunyai anti-HBc positif adalah umur antara 20-29 tahun (44,4%) dan umur 40-49 tahun (37%). Umur 20-29 tahun merupakan umur yang sedang produktif, besar kemungkinan terjadinya penyebaran HBV terutama melalui transfusi darah apalagi bila donor tersebut sebagai donor tetap. Hasil ini berbeda dengan

penemuan (13) dengan memeriksa semua populasi sebanyak 463 donor darah, dia menemukan 43,3% anti-HBc positif pada donor darah HBsAg negatif pada umur 50-59 tahun sedangkan pada umur 20-29 tahun hanya 5%.

Anti-HBc bertahan dalam darah dalam jangka waktu lama, hal ini dapat dimanfaatkan untuk mengetahui seseorang pernah terinfeksi HBV dan hal ini sangat membantu dalam mengurangi penularan HBV melalui transfusi darah ataupun transplantasi jaringan. Untuk membuktikan darah donor dengan anti-HBc positif masih mengandung HBV-DNA, diperlukan pemeriksaan tambahan PCR. Terdapatnya HBV DNA positif dengan PCR diantara darah donor HBsAg negatif dan anti-HBc positif sudah dibuktikan dari peneliti terdahulu.^(17,18)

Anti-HBc positif dengan HBV-DNA negatif belum tentu bebas dari HBV dan darah ini masih mungkin menularkan HBV. Walaupun PCR lebih sensitif dari pemeriksaan serologis tetapi jumlah HBV-DNA yang sedikit juga tidak bisa diketahui melalui PCR. Jumlah HBV-DNA yang dapat menimbulkan infeksi pada binatang percobaan sangat bervariasi yaitu antara 3-169 geq.⁽¹⁹⁾ Timbulnya infeksi tergantung pada status respon imun host.

Kesimpulan dan Saran

Donor darah dengan HBsAg negatif yang berada pada persentil 20 dari *cut off point* pada Unit Transfusi Darah PMI Cabang Padang, yang sudah dianggap bebas dari hepatitis B ternyata masih mungkin menularkan HBV sehubungan ditemukan anti-HBc positif sebanyak 27%. Anti-HBc positif pada penelitian ini terutama

ditemukan pada laki-laki umur 20-29 tahun.

Terdapat korelasi antara indeks HBsAg negatif dengan indeks anti-HBc tetapi tidak bermakna signifikan ($r = 0,02$). Indeks anti-HBc positif paling banyak ditemukan pada penelitian ini pada indeks HBsAg 0,21-0,60 sebanyak 76 %.

Untuk memenuhi persyaratan donor darah terhadap HBV dan untuk mencegah penularan HBV melalui transfusi darah, selain pemeriksaan HBsAg perlu dilakukan skrining tambahan yaitu pemeriksaan terhadap anti-HBc.

Untuk menentukan frekuensi anti-HBc positif dan korelasi anti-HBc + dengan HbsAg - yang lebih akurat dan distribusi anti-HBc menurut umur donor darah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar.

KEPUSTAKAAN

1. Schreiber G.B., M.P. Busch, S.H. Kleinman, J.J. Korelitz, The risk of transfusion-transmitted viral infections *The New England Journal of Medicine* **334**, 1685 (1996).
2. Poland G.A., R.M. Jacobson, Prevention of Hepatitis B with the Hepatitis B Vaccine *N Engl J Med* **351**, 2832-8 (2004).
3. Yoshikawa A., Y. Gotanda, M. Itabashi, K. Minegishi, K. Kanemitsu, K. Nishioka, Hepatitis B NAT virus-positive blood donors in the early and late stages of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA *Vox Sanguinis* **88**, 77-86 (2005).

4. Ronald A.S., B.S. George, H.K. Steven, Prevention of transfusion-transmitted hepatitis *The Lancet* **355**, 331 (2000).
5. Kleinman S.H., M.C. Kuhns, D.S. Todd, Frequency of HBV DNA detection in US blood donors testing positive for the present of anti-HBc implication for transfusion transmission and donor screening. *TRANSFUSION* **43**, 696-704 (2003).
6. Saraswat' S., K. Banerjee', N. Chaudhury', T. Mahan?', P. Khandeka?', R.K. Gupta⁴, S. Naik³, Post-transfusion hepatitis type B following multiple transfusions of HBsAg-negative blood *Journal of Hepatology* ; : **25**, 639-43 (1996).
7. Soldan K., M. Ramsay, M. Collins, Acute hepatitis B infection associated with blood transfusion in England and Wales, 1991-7: Review of database *British Medical Journal* **318**, 95 (1999).
8. Colombatto P., R. Bizzarri, L. Civitano, F. Oliveri, F. Bonino, G. Germanidis, P. Farci, *et al.*, 421 A new bio-mathematical model to describe the dynamics of HBV-DNA and infected hepatocytes in HBEAG-negative/anti-HBE-positive chronic hepatitis B patients treated with peginterferon alfa-2A (40KD) (PEGASYS(R)), lamivudine, or PEGASYS(R) plus lamivudine combin *Journal of Hepatology* **40**, 125- (2004).
9. Chen Y.-S., C.-C. Wang, V.H. de Villa, S.-H. Wang, Y.-F. Cheng, T.-L. Huang, B. Jawan, *et al.*, Prevention of de novo hepatitis B virus infection in living donor liver transplantation using hepatitis B core antibody positive donors *Clinical Transplantation* **16**, 405-9 (2002).
10. Pereira A., Health and economic impact of posttransfusion hepatitis B and cost-effectiveness analysis of expanded HBV testing protocols of blood donors: a study focused on the European Union *TRANSFUSION* **43**, 192-201 (2003).
11. Lu S.-N., C.-H. Chen, T.-M. Chen, P.-L. Lee, J.-H. Wang, H.-D. Tung, C.-H. Hung, *et al.*, Hepatitis B virus infection in adolescents in a rural township--15 years subsequent to mass hepatitis B vaccination in Taiwan *Vaccine* **24**, 759-65 (2006).
12. Sulaiman H.A., Julitasari, A. Sie, M. Rustam, W. Melani, G.B. Jennings, Prevalence of hepatitis B and C viruses in healthy Indonesian blood donors *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **89**, 167-70 (1995).
13. Yugi H., M. Mizui, J. Tanaka, H. Yoshizawa, Hepatitis B virus (HBV) screening strategy

- to ensure the safety of blood for transfusion through a combination of immunological testing and nucleic acid amplification testing -- Japanese experience *Journal of Clinical Virology* **36**, S56-S64 (2006).
14. Steven A.C., J.F. Conway, N. Cheng, N.R. Watts, D.M. Belnap, A. Harris, S.J. Stahl, *et al.*, Structure, Assembly, And Antigenicity Of Hepatitis B Virus Capsid Proteins *ADVANCES IN VIRUS RESEARCH* **64**, 125-64 (2005).
15. Rehermann B., M. Nascimbeni, Immunology Of Hepatitis B Virus And Hepatitis C Virus Infection *Nature Reviews Immunology* **5**, 215-29 (2005).
16. Yotsuyanagi H., K. Yasuda, S. Iino, K. Moriya, Y. Shintani, H. Fujimie, T. Tsutsumi, *et al.*, HBV DNA in serum of HBsAg-negative, anti-HBc-positive blood donors *TRANSFUSION* **42**, 1616-7 (2002).
17. Bhatti F.A., Z. Ullah, N. Salamat, M. Ayub, E. Ghani, Anti-hepatitis B core antigen testing, viral markers, and occult hepatitis B virus infection in Pakistani blood donors: implications for transfusion practice *TRANSFUSION* **47**, 74-9 (2007).
18. Behzad-Behbahani A., A. Mojiri, S.Z. Tabei, A. Farhadi-Andarabi, R. Pouransari, R. Yaghobi, M. Rahsaz, *et al.*, Outcome of Hepatitis B and C Virus Infection on Graft Function After Renal Transplantation *Transplantation Proceedings* **37**, 3045-7 (2005).
19. Hsia C.C., R.H. Purcell, M. Farshid, P.A. Lachenbruch, M.-y.W. Yu, Quantification of hepatitis B virus genomes and infectivity in human serum samples *TRANSFUSION* **46**, 1829-35 (2006).