

Sebaran Geografi *Non Polio Enterovirus* (NPEV) dari Kasus Layu Akut di Bagian Barat Indonesia 2007-2010

Krisna N.A. Pangesti¹, Nike Susanti¹, Yeremiah²

¹ Pusat Biomedis & Teknologi Dasar Kesehatan, Balitbangkes, Kemenkes RI.

² Fakultas Biologi Universitas Nasional

email: krisna@gmail.com

Abstract

Acute Flaccid Paralysis (AFP) surveillance which comprises cases and laboratory investigation has been established by WHO in order to achieve the goal of global eradication of polio. NIHRD is one of the national reference polio laboratories in Indonesia that conduct diagnostic test for AFP case specimens from the Western part of Indonesia. AFP cases can be caused by poliovirus and non polio viruses, such as enteroviruses. This recent study investigate the serotype of Non Polio Enteroviruses (NPEV) from AFP cases in 2007-2010 and its geographical distribution. This recent study used biological archive from AFP cases in 2007-2010. AFP specimens was cultured in cell line (RD/L20B) in BSL-2 laboratory. Positive isolates from RD cell line in negative in L20B cell line in were tested by neutralization test to determine serotype of NPEV. Demography data were also collected from case investigation form of the patients and geographical data was analyzed using GIS arc View 3.3. From a total 2525 AFP cases, 6,8% are NPEV. NPEV cases were mostly found in North Sumater province (20,4%), There is variation fo the number of NPEV cases found each year in 16 province that sen AFP specimens to NIHRD. NPEV cases is commonly found in age group 1-5 years old, (54,3% in 2007, 86,7% in 2008, 62,2% in 2009 and 66,3% in 2010). Serotyping using WHO standard antisera showed that Echovirus is the common serotype found in 2007-2010. However, there were unidentified or untypeable NPEV isolates that need further investigation. NPEV is one of the etiologies that cause Acute Flaccid Paralysis (AFP) in Western part of Indonesia. Further detection of NPEV serotype using molecular tehcnology is needed to reveal other etiologies of AFP.

Key words: *Acute Flaccid Paralysis, Non Polio Enterovirus, Serotype*

Abstrak

Surveilans lumpuh layu akut atau *Acute Flaccid Paralysis* (AFP) yang terdiri dari investigasi kasus dan pemeriksaan laboratorium telah ditetapkan oleh WHO sebagai bagian program pemberantasan polio global. Laboratorium Virologi Badan Litbangkes adalah salah satu laboratorium rujukan Nasional penyakit polio di Indonesia yang melakukan tes diagnostik untuk spesimen kasus AFP dari Indonesia bagian Barat. Kasus AFP dapat disebabkan oleh virus polio dan virus non polio seperti enterovirus. Tujuan penelitian ini adalah untuk menyelidiki serotipe *Non Polio Enterovirus* (NPEV) dari kasus AFP pada tahun 2007-2010 dan distribusi geografisnya. Studi ini menggunakan spesimen tersimpan dari kasus AFP pada tahun 2007-2010. Spesimen AFP dikultur dalam lini sel (RD/L20B) di laboratorium BSL-2. Isolat positif dari lini sel RD dan negatif pada lini sel L20B diuji netralisasi untuk menentukan serotipe NPEV. Data denografi juga dikumpulkan dari bentuk kasus investigasi dari pasien sedangkan, data geografis dianalisis menggunakan GIS View 3.3. Dari total 2625 kasus AFP, ditemukan 6,8% kasus NPEV. Kasus NPEV terbanyak ditemukan di provinsi Sumatera Utara (20,4%). Terdapat variasi jumlah kasus NPEV yang ditemukan setiap tahunnya pada 16 provinsi yang mengirim spesimen AFP ke Laboratium Badan Litbangkes. Kasus NPEV umumnya ditemukan dalam kelompok usia 1-5 tahun, (54,3% pada tahun 2007, 86,7% pada tahun 2008, 62,2% pada tahun 2009, dan 66,3% pada tahun 2010). *Serotyping* menggunakan antiserum standar WHO menunjukkan bahwa *Echovirus* adalah serotipe yang paling banyak ditemukan pada spesimen AFP yang dikumpulkan pada tahun 2007-2010. Namun, terdapat isolat NPEV tidak dikenal atau *untypeable* yang perlu penyelidikan lebih lanjut. Echovirus merupakan salah satu etiologi yang menyebabkan *Acute Flaccid Paralysis* (AFP) di Indonesia bagian Barat. Deteksi lebih lanjut serotipe NPEV menggunakan teknologi molekuler diperlukan untuk mengungkap etiologi lain dari AFP.

Kata Kunci: *Acute Flaccid Paralysis, Non Polio Enterovirus, Serotype*

Pendahuluan

Human Enterovirus merupakan virus RNA yang termasuk anggota genus *Enterovirus*, famili *Picornaviridae* menginfeksi jutaan, terutama anak-anak, di seluruh dunia setiap tahunnya. Gejala yang ditimbulkan bervariasi dan dapat berupa gejala yang ringan hingga berat, seperti infeksi saluran nafas, *hand foot and mouth disease*, konjungtivitis, meningitis, miokarditis dan *Acute Flaccid Paralysis* (AFP). AFP didefinisikan sebagai gejala kelumpuhan yang cepat, antara 1-14 hari sejak terjadinya gejala awal (nyeri, kesemutan, kebas), sampai kelumpuhan maksimal yang sifatnya layuh tanpa memperhatikan penyebabnya kecuali ruda paksa¹. Surveilans AFP dilakukan sebagai bagian program eradikasi polio global. Di dalam kegiatan surveilans AFP dilaksanakan investigasi kasus dan pemeriksaan laboratorium; isolasi virus dan penentuan tipe virus. Indonesia memiliki jejaring laboratorium polio dimana Laboratorium Virologi Badan Litbangkes termasuk didalamnya.

Di dunia, kasus AFP yang disebabkan oleh virus Polio liar mulai jarang ditemukan, namun kasus AFP yang disebabkan oleh NPEV selalu ditemukan setiap tahunnya dengan kisaran 3-10% pertahun². Pada penelitian di beberapa Laboratorium Nasional Polio di Dunia ditemukan angka kasus NPEV yang cukup tinggi, seperti di Lucknow India dari 523 kasus AFP selama tahun 2002-2003, ditemukan 307 kasus dengan positif NPEV (15%)⁴. Non Polio Enterovirus juga dapat menyebabkan wabah AFP seperti yang terjadi di New Zealand (Grimwood dkk, 2003).

Pemantauan sirkulasi *enterovirus* sangat penting karena setiap serotipe mempunyai pola sirkulasi dan gejala yang berada dimana munculnya serotipe yang berada dapat disertai dengan wabah penyakit *enterovirus*. Pemantauan *enterovirus* juga dapat membantu dalam

menentukan pola jangka panjang dari sirkulasi enterovirus yang dapat digunakan sebagai petunjuk saat investigasi. Kejadian Luar Biasa (KLB). Kandidat obat anti *enterovirus* bervariasi antar serotipe, maka informasi sirkulasi enterovirus membantu pengembangan tes diagnosis dan terapi yang baru (Kargar dkk, 2009).

Non Polio Enterovirus diklasifikasikan dalam 3 grup yaitu Coxsackie A (CA), Coxsackie B (CB), dan *Echovirus* yang masing-masing mempunyai banyak serotipe. Klasifikasikan enterovirus ini didasarkan atas kemampuan masing-masing serotipe untuk tumbuh di berbagai sel kultur dan hewan uji. Saat ini informasi mengenai keragaman NPEV dan sebaran geografisnya di Indonesia belum tersedia, oleh karena itu perlu diteliti apa saja serotipe NPEV dan bagaimana sebaran geografisnya di Indonesia.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui serotipe *Non Polio Enterovirus* yang bersirkulasi dan sebaran geografisnya di Indonesia pada penderita yang dilaporkan oleh surveilans AFP sebagai penderita AFP. Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan gambaran serotipe *Non Polio Enterovirus* yang bersirkulasi dan sebaran geografisnya di Indonesia dapat dijadikan sebagai data dasar untuk selanjutnya dapat digunakan sebagai dasar pencegahan dan pengendalian penyakit lumpuh layuh di Indonesia .

Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Virologi, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Waktu penelitian dilakukan pada bulan September 2010 sampai Januari 2011. Populasi yang digunakan adalah Penderita kasus AFP yang spesimen tinjanya diterima di laboratorium *National Polio Laboratory*

(NPL) Jakarta tahun 2007 sampai 2010, sedangkan sampel penelitian adalah isolat dari spesimen tinja yang diketahui positif Non Polio Enterovirus tahun 2007 sampai 2010. Jumlah sampel yang diperiksa sebanyak 181 isolat.

Virus ditanam dari tinja yang telah diproses untuk diambil ekstraknya pada sel L20B dan RD. Sel L20B spesifik untuk virus Polio dimana virus Polio akan memproduksi CPE di sel ini. Beberapa virus selain Polio juga memproduksi CPE di sel L20B seperti Adenovirus dan Reovirus tapi menghasilkan karakteristik CPE yang berbeda. Beberapa *Non Polio Enterovirus* juga memproduksi CPE di L20B seperti Coxsackie A. Untuk memastikan adanya virus Polio maka dilakukan uji lebih lanjut dengan menggunakan metoda netralisasi atau saat ini digantikan dengan metoda PCR⁵

Sel RD sensitif untuk virus Polio dan beberapa enterovirus, semua memproduksi CPE yang karakteristik. WHO telah menetapkan prosedur baku untuk Laboratorium Nasional Polio yaitu jika sel virus tumbuh di sel RD yang ditandai dengan adanya CPE maka isolat virus harus dikultur di sel L20B untuk menjangkit adanya virus Polio.

Jika Sel L20B menunjukkan adanya CPE maka dilaporkan sebagai virus Polio tetapi jika tidak menunjukkan adanya CPE di sel RD maka dilaporkan sebagai *Non Polio Enterovirus*⁵. Untuk mengidentifikasi serotipe dari Non Polio Enterovirus maka dilakukan tes netralisasi dengan menggunakan sel RD.

Hasil netralisasi dianalisis secara deskriptif dan penyajian distribusi dilakukan dengan bantuan program GIS (*Geographic Information System*) ArcView 3.3.

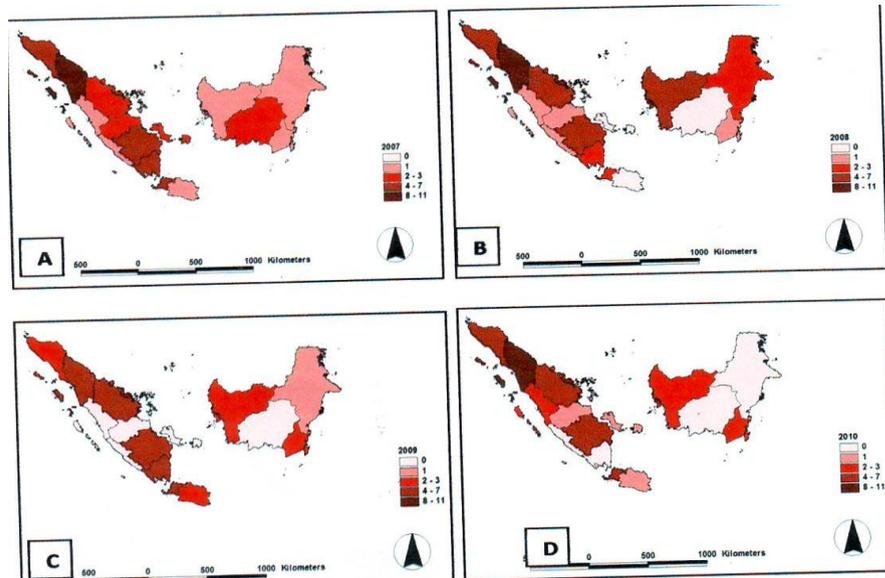
Hasil

Laboratorium Nasional Polio Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Penelitian Pengembangan Kesehatan Depkes Jakarta menerima kasus AFP sebanyak 593 kasus pada tahun 2007, 719 kasus pada tahun 2008, 716 kasus pada tahun 2009, dan 599 kasus pada tahun 2010. Kasus berasal dari daerah Indonesia bagian barat meliputi seluruh provinsi di Pulau Sumatera, DKI Jakarta, Banten dan seluruh Provinsi di Pulau Kalimantan. Tabel 1. berikut menunjukkan gambaran jumlah kasus AFP yang diterima berdasarkan Provinsinya.

Pemeriksaan terhadap 2.625 kasus yang di terima oleh Laboratorium Nasional Polio Badan Litbang Depkes Jakarta, didapatkan hasil berupa positif polio, negated atau *Non Polio Enterovirus* (NPEV). Sebaran kasus NPEV berdasarkan asal kasus selama kurun waktu 4 tahun dari tahun 2007 hingga 2010 ditemukankasus NPEV terbanyak ada di pulau Sumatera yaitu sebanyak 127 kasus (> 70,2%) dan kasus terbanyak ditemukan di Provinsi Sumatera Utara yaitu 37 kasus (20,4%). Jumlah kasus NPEV tidak selalu dipengaruhi oleh banyaknya jumlah kasus AFP yang ditemukan. Sebaran geografis *Non Polio Enterovirus* yang ditemukan setiap tahunnya dari tahun 2007 hingga 2010 dapat dilihat dari peta berikut:

Tabel 1. Sebaran Penderita AFP Menurut Provinsi Pada Tahun 2007-2010

Provinsi	2007	2008	2009	2010	Total
DI Aceh	42	45	47	44	178
Sumatera Utara	109	110	97	89	405
Sumatera Barat	40	34	46	26	146
Riau	44	61	69	55	229
Jambi	15	24	18	18	75
Sumatera Selatan	74	85	84	60	303
Bengkulu	11	16	18	11	56
Lampung	41	78	57	43	219
Bangka Belitung	10	8	12	10	40
Kepulauan Riau	6	12	14	12	44
DKI Jakarta	61	72	64	59	256
Banten	56	62	81	77	276
Jawa Barat	9	16	19	17	61
Kalimantan Barat	30	29	29	25	113
Kalimantan Tengah	5	13	12	8	38
Kalimantan Selatan	23	23	22	21	89
Kalimantan Timur	17	31	27	22	97
Total	593	719	716	597	2625



Gambar 1. Peta Sebaran Geografis NPEV Tahun 2007-2010

Dari Gambar 1. diatas dapat dilihat walaupun Provinsi DKI Jakarta menemukan kasus AFP lebih banyak daripada Provinsi Banten dan Riau namun kasus NPEV lebih banyak ditemukan di Provinsi Riau dan Banten, begitu juga

untuk Provinsi yang lainnya dengan temuan kasus NPEV bervariasi dan tidak dipengaruhi jumlah kasus AFP yang ditemukan. Hasil dari variasi serotype Non Enterovirus dapat di lihat di Table 2.

Tabel 2. Hasil Identifikasi Serotipe Spesimen Positif NPEV pada Kasus AFP Tahun 2007-2010

Serotipe	2007	2008	2009	2010	Total
Coxsackie B	4	12	5	12	33
Coxsackie A9	0	0	1	0	1
Echo 1	3	2	1	2	8
Echo 11	3	1	2	2	8
Echo 12	1	1	2	3	7
Echo 13	2	5	2	3	12
Echo 14	0	1	0	0	1
Echo 20	1	3	2	5	11
Echo 21	0	1	0	1	2
Echo 22	0	0	0	2	2
Echo 25	7	1	1	2	11
Echo 27	0	1	0	0	1
Echo 28	0	2	1	0	3
Echo 3	1	0	1	3	5
Echo 30	11	1	0	2	14
Echo 33	0	0	2	0	2
Echo 4	4	0	2	1	7
Echo 6	2	1	5	2	10
Echo 7	1	3	3	0	7
Non Polio virus	6	10	7	13	36
Total	46	45	37	53	2625

Pembahasan

Selama kurun waktu 4 tahun dari tahun 2007 hingga 2010 kasus tertinggi berasal dari Sumatera Utara yaitu sebanyak 405 kasus (15,4%) dan kasus paling sedikit berasal dari Kalimantan Tengah yaitu sebanyak 38 kasus (1,4%). Hal ini lebih dipengaruhi oleh besaran jumlah anak berumur kurang dari 15 tahun di tiap provinsinya dan aktifnya surveilans di masing-masing Provinsi, dimana kasus minimal yang harus ditemukan oleh masing-masing Provinsi minimal 1/100.00 penduduk berusia < 15 tahun. (Depkes RI, 200). Peta sebaran geografis pada Gambar 1. menunjukkan bahwa Provinsi Sumatera Utara menemukan kasus NPEV yang tertinggi setiap tahunnya. Provinsi D.I. Aceh, Riau, Sumatera Selatan, Lampung dan Banten juga menemukan kasus NPEV cukup tinggi hampir setiap tahunnya walaupun pada tahun 2008 jumlah kasus yang ditemukan provinsi Aceh dan Banten menurun dan kasus di Lampung menurun pada tahun 2010. Provinsi Jambi, Bengkulu, Bangka Belitung dan Kepulauan Riau tidak pernah menemukan lebih dari tiga kasus NPEV setiap tahunnya. Walaupun Provinsi Kalimantan Tengah pada tahun 2007 menemukan paling banyak kasus, namun pada tahun 2008 hingga 2010 sudah tidak ditemukan lagi.

Variasi temuan kasus NPEV ini dapat dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain adalah kepadatan penduduk, seperti halnya di Provinsi Sumatera Utara yang memiliki jumlah penduduk dan anak-anak lebih tinggi dibandingkan Provinsi lainnya.^{6,7}

Transmisi enterovirus utamanya adalah melalui rute fecal-oral. Air, tanah dan makanan yang terkontaminasi dengan feses menjadi sumber utama penularan. Dhenni (2008) dalam penelitiannya mengungkapkan prevalensi enterovirus mencerminkan fasilitas sanitasi yang tersedia bagi penduduk. Selain minimnya fasilitas sanitasi dasar, rendahnya akses

individu terhadap sumber air bersih dapat menjadi penyebab tingginya prevalensi infeksi enterovirus.¹¹ Selain itu kebiasaan berkumpul dari individu di masing-masing Provinsi juga dapat mempengaruhi penyebaran enterovirus karena menurut Pallansch dan Roos (2006) transmisi enterovirus diantara rumah tangga maupun komunitas dapat terjadi terutama di saat banyak individu berkumpul.

Tabel 2. menunjukkan bahwa serotype enterovirus yang dideteksi sangat bervariasi di setiap Provinsi, sebagian besar di dominasi oleh Echovirus yaitu sebanyak 111 kasus (61,3%) selama kurun waktu 4 tahun dari tahun 2007 hingga 2010 dan Echovirus 30 paling banyak ditemukan yaitu sebanyak 14 kasus (7,7%). Dominasi oleh grup Echovirus ini terjadi setiap tahunnya walaupun serotype yang ditemukan bervariasi setiap tahunnya. Virus Coxsackie A hanya ditemukan pada tahun 2009.

Pada beberapa penelitian yang dilakukan pada kasus AFP maupun dari Lingkungan, Echovirus adalah jenis enterovirus yang paling banyak ditemukan seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Mohammad Kargar dkk di Iran, sekitar 71% tipe NPEV yang ditemukan adalah Echovirus. Oderinde Bamidele Soji dan kawan-kawan di Nigeria dan Mohsan saeed dkk di Pakistan juga melakukan penelitian NPEV pada kasus AFP dan menemukan kasus dengan Echovirus lebih banyak ditemukan. Bahkan Echovirus juga pernah menjadi wabah di New Zealand pada bulan Agustus 2002 dan dilaporkan sebagai kasus AFP seperti yang ditulis Keith Grimwood dkk.

Pada tabel di atas juga menunjukkan adanya jenis virus yang tidak dapat diidentifikasi (unidentified atau ungrup) yang dilaporkan sebagai non Polio virus sebanyak 36 kasus (19,9%) selama tahun 2007 hingga tahun 2010. Seperti yang telah dituliskan di uraian cara kerja bahwa untuk virus yang tumbuh tapi tidak

memberikan pola tertentu maka dilaporkan menurut prosedur yang ditetapkan oleh WHO sebagai Non Polio.⁸ Pada beberapa penelitian dilaporkan sebagai indeterminates, untypable atau non typable Enterovirus.⁹

Penemuan kasus non Poliovirus ini dapat disebabkan oleh banyak factor, diantaranya karena keterbatasan antisera dimana antisera standar yang disediakan oleh WHO tidak dapat mengidentifikasi semua strain enterovirus. Beberapa enterovirus baru seperti Enterovirus 71 tidak dapat di deteksi dengan menggunakan Pool antisera standar WHO. Selain itu hal ini juga dapat disebabkan oleh agregat dari beberapa virus seperti virus adeno, virus reo dan non Polio enterovirus yang mempengaruhi netralisasi.¹⁰

Untuk itu, deteksi strain enterovirus lainnya dengan menggunakan metode lain seperti PCR diharapkan dapat membantu untuk mengidentifikasi strain enterovirus terutama strain baru yang menimbulkan masalah kesehatan masyarakat.

Kesimpulan

Kasus *Acute Flaccid Paralysis* selama kurun waktu 4 tahun dari tahun 2007 hingga 2010 yang disebabkan oleh Non Polio Enterovirus masih ditemukan di wilayah Indonesia bagian barat dimana kasus tertinggi ditemukan di Provinsi Sumatera Utara. Sebaran kasus infeksi Non Polio Enterovirus pada kasus AFP dipengaruhi oleh umur tapi tidak dipengaruhi oleh jenis kelamin. Anak-anak berumur 1-5 tahun paling rentan untuk terinfeksi Non Polio Enterovirus. Serotipe Non Polio Entero virus adalah serotipe yang paling banyak menginfeksi anak-anak yang menyebabkan *Acute Flaccid Paralyse* (AFP)

Ucapan Terima Kasih

Kami sampaikan ucapan terima kasih kepada Subdit Surveilans dan Respons KLB, Ditjen P2PL (Dr.Hari Santoso), WHO-Indonesia (Rusipah, Ubaidillah dan Fetty Wijayanti), staf laboratorium BTDK, Badan Litbangkes (Dr.dr.Vivi Setiawaty, M.Biomed, drh Gendro Wahyuwono, dr. herna, Sinta Purnawati, Klino, Wasiyo, Asri Febriyani), Dinas Kesehatan Propinsi dan Kabupaten/Kota dan dosen dan staf akademik Fakultas Biologi Universitas Nasional (Imran SL., Tobing, Drs. M.Si, Noortiningsih Dra., Msi., Nina)

Daftar Rujukan

1. Saeed, Mohsan, Sohail Z. Zaidi, Asif Naeem, Muhammad Masroor, Salman Sharif, Shahzad Shaukat, Mehar Angez, and Anis Khan. "Epidemiology and clinical findings associated with enteroviral acute flaccid paralysis in Pakistan" *BMC Infectious disease* 7, no.1 (2007) : 6.
2. Depkes RI Jakarta, 2007, Pedoman Surveilans Acute Flaccid Paralysis
3. Bahri, O., D.Rezig, B.Ben Nejma Ouslati, A.Ben yahia, J.Ben Sassi, N.Hogga, A.Sadraoui, and H.Triki. "Enteroviruses in Tunisia: virological surveillance over 12 years (1992-2003). " *Journal of medical microbiology* 54, no.1 (2005); 63-69
4. Kapoor, Amit, A. Ayyagari, and T.N.Dhole " Non-polio enteroviruses in acute flaccid paralysis. " *The Indian Journal of Pediatrics* 68, No.10 (2001): 927-929
5. Soji, Oderinde Bamidele, Olabode Antanda Olayinka, Harry Tekena Obu, Bab Marcyelin Mandu, Bukbuk David Nadeba, and Ogunmola Olamide Olayinka. "Non-polio enteroviruses implicated in acute flaccid paralysis in northern Nigeria". *Research Journal of Medicine and Medical Sciences* 2, no.1 (2007): 25-28
6. Kargar, Mohammad, Sara Sadeghipour, and Rakhsandeh Nategh. "Environmental surveillance of non-polio enteroviruses in Iran". *Virol J* 6, no. 149 (2009): 149

7. Badan Pusat Statistik (BPS), 2011, Data Statistik Indonesia 2011, diunduh dari <http://www.datastatistik indonesia.com>
8. WHO, 2004, Polio Laboratory Manual, 4th edition.
9. Kuramatsu, M., C.Kuroiwa, H. Yoshida M.Miyoshi, J. Okumura, H. Shimizu, L. Narantuya, and D. Bat-Ochir. "Non-polio enterovirus isolation among families in Ulaanbatar and Tov province, Mongolia: prevalence, intra familia spread and risk factors for infection." *Epidemiology and infection* 133, no.6 (2005) : 1131-1142.
10. Umami, Rifqiyah Nur, Rama Dhenni, Ahmad Jajuli, Yorihiro Nisimura, Hiroyuki Shimizu and Andi Utama. "Detection and Identification of Human Enteroviruses among Healthy Children in Atajaya, Bogor" *Journal of Biotechnology Research in Tropical Region* (2009) Vol.2, No.1
11. Pallansch, M.A. dan R.P Roos. 2006. Enteroviruses; Polioviruses, coxsackie viruses, Echoviruses and Newer Enteroviruses. In D.M. Knipe, P.M. Howley, D.E.Griffin, R.A. Lamb, M.A. Martin, B. Roizman & S.E Straus (Eds). *Fields Virology*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, PA. 723-775.
12. Grimwood, Keith, Q. Sue Huang, Lynette G. Sadleir, W. Allan Nix, David R. Kilpatrick, M. Steven Oberste, and mark A. Pallansch. "Acute Flaccid Paralysis From Echoviruses type 33 infection." *Journal of clinical microbiology* 41, no.5 (2003) : 2230-2232
13. Rajtar. B, Majek. M. Polanski. L., Polz-Dacewicz. M, 2008, Enterovirus in water environment- a potential threat to public, *Ann Agric Environ Med* 15, 199-203. Review Article.