

ABSTRAK

DEMAM BERDARAH DENGUE DAN PERKEMBANGAN VAKSINNYA

Liva Wijaya, 2005. Pembimbing utama: Fanny Rahardja, dr., Msi.

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan permasalahan masyarakat global. Hal ini menjadi salah satu penyebab hospitalisasi dan kematian diantara anak-anak, terutama di negara berkembang. Ledakan DBD telah terjadi di negara kita beberapa bulan yang lalu dan ini berhubungan dengan angka kematian yang signifikan terutama di kalangan pediatri.

Makalah ini menjelaskan struktur virus, faktor epidemiologi, manifestasi klinik, patogenesis DBD, dan terutama mengenai perkembangan vaksinnya. Tujuan dari makalah ini adalah untuk mempelajari perkembangan vaksin Dengue.

Saat ini, tidak ada vaksin yang tersedia tetapi terdapat 4 kelompok penelitian mengenai hal tersebut. Vaksin-vaksin itu adalah vaksin virus hidup yang dilemahkan, vaksin chimera, vaksin subunit dan vaksin asam nukleat. Bukti-bukti terakhir menunjukkan bahwa terdapat kandidat vaksin yang memiliki efikasi dan efisiensi yang optimal untuk mencegah penyakit Dengue. Untuk saat ini, vaksin itu adalah vaksin virus hidup yang dilemahkan.

Untuk mengurangi kejadian penyakit Dengue terutama DBD dapat dilakukan berbagai usaha seperti menemukan teknik lain untuk memproduksi vaksin dan meneliti kemungkinan digunakannya imunoglobulin, interferon, dan obat-obat lain sebagai terapi pilihan untuk mencegah terjadinya penyakit atau manifestasi klinik yang berat. Jangan lupa mengenai nyamuk dan lingkungan karena diperlukan penanganan khusus yang komprehensif bila menginginkan menurunnya penyakit Dengue.

Kata kunci: Demam Berdarah Dengue, Vaksin, Perkembangan

ABSTRACT

DENGUE HEMORRHAGIC FEVER AND ITS VACCINE DEVELOPMENT

Liva Wijaya, 2005; The main tutor: Fanny Rahardja, dr., Msi.

Dengue hemorrhagic fever (DHF) has been a major global public health problem. It becomes one of causes of hospitalization and death among children, especially in developing countries. A DHF outbreak had occurred at our country several months ago and it associated with significant mortality, particularly in the pediatric population.

This paper explained about the structure of the virus, epidemiological factor, clinical manifestations, pathogenesis of DHF, and especially about the development of its vaccines. The objective of this paper is to study Dengue vaccine's development.

At this time, there is no vaccine available but there are 4 groups researches of Dengue vaccines. They are life attenuated vaccine, chimera vaccine, subunit vaccine and nucleic acid vaccine. The latest evidences show that there is a vaccine candidate that has an optimal efficacy and efficiency to prevent Dengue disease that already to use. For this time, that vaccine is life attenuated vaccine.

In order to reduce the incidence of Dengue disease especially DHF, we can do a lot of efforts such as find the other techniques of vaccine production and research the possibility of immunoglobulin, interferon, and other drugs as one of choices of therapy of Dengue disease to prevent the disease or the severe clinical manifestations. Don't forget about the mosquitoes and environment, because it needs special actions which are comprehensive if we want to decrease the incidence of Dengue disease.

Key-words: Dengue Hemorrhagic Fever, Vaccine, Development

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR DIAGRAM	xvi
DAFTAR GRAFIK	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Identifikasi Masalah	2
1.3. Maksud dan Tujuan Penulisan	3
1.4. Manfaat Penulisan	3
1.5. Metodologi	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Pengertian	4
2.2. Penyebab	4
2.2.1. Genom Virus	5
2.2.2. Protein Virus	6
2.2.3. Proses Replikasi Virus	10
2.2.4. Proses Pembentukan Protein	12
2.3. Epidemiologi	15
2.3.1. Sejarah dan Persebaran Geografi	15
2.3.2. Penjamu	17
2.3.3. Penyebar	19
2.3.4. Transmisi	21
2.4. Diagnosis Klinis	22
2.4.1. Demam Dengue	23
2.4.2. Demam Berdarah Dengue	25
2.5. Immunopatogenesis	28

2.5.1. Infeksi Primer Dengue	29
2.5.1.1. Respon Imun Nonspesifik	29
2.5.1.2. Respon Imun Spesifik	39
2.5.2. Infeksi Sekunder Dengue dengan Serotipe Heterolog	43
2.6. Vaksin	46
2.6.1. <i>Life Attenuated Vaccine</i>	46
2.6.1.1. Vaksin Virus yang Dilemahkan Melalui Pembiakan Berulang	48
2.6.1.2. <i>Recombinant Life Attenuated Virus Vaccines</i>	68
2.6.1.2.1. <i>Infectious cDNA clone-Derived Dengue Vaccine</i>	68
2.6.1.2.1.1. DENV Δ 30	69
2.6.1.2.1.2. DENVMutF	90
2.6.1.2.2. Vaksin Chimera	98
2.6.1.2.2.1. <i>Chimera-Vax</i>	98
2.6.1.2.2.2. Vaksin DEN1-4 prM dan E <i>inserted to</i> DEN2 16681 PDK53	106
2.6.1.2.3. <i>Recombinant Subunit Vaccines</i>	110
2.6.3. Nucleid acid system	114
2.6.3.1. Naked DNA	114
2.6.3.2. Vaksin Plasmid DNA yang Mengkode Protein prM dan E	115
2.6.3.3. <i>DEN2 DNA Vaccine By Incorporation of Lysosome Associated</i> <i>Membrane Protein (LAMP) Sequences and Use of Plasmids</i> <i>Expressing GM-CSF</i>	120
2.6.3.4. Vaksin DNA DEN2 yang Mengandung Protein NS1	120
2.6.4. <i>Nonreplicating Dengue Vaccine</i>	121
2.6.4.1. <i>Inactivated Whole Virus</i>	121
2.6.4.2. <i>Structural Proteins Purified from Whole Virus</i>	121
2.6.4.3. <i>Nonstructural Proteins Purified from Infected Cells</i>	122
2.6.4.4. <i>Synthetic Peptide</i>	123
BAB III. PEMBAHASAN	125
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN	133
4.1. Kesimpulan	133
4.2. Saran	133
DAFTAR PUSTAKA	134
LAMPIRAN	149
RIWAYAT HIDUP	152

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	
Kriteria gejala post vaksinasi sukarelawan dewasa	54
Tabel 2.2	
Komposisi dari ketujuh formulasi kandidat vaksin Dengue	55
Tabel 2.3	
Jumlah sukarelawan dengan reaksi klinik yang parah dan abnormalitas biologis yang berat, yang diteliti setelah dosis pertama vaksinasi virus Dengue tetravalen yang dilemahkan	57
Tabel 2.4	
Formulasi vaksin pada sukarelawan anak	60
Tabel 2.5	
Tingkat infeksi, penyebaran, dan transmisi virus oleh <i>Aedes aegypti</i> setelah diinfeksi secara oral dan parentral	63
Tabel 2.6	
Perbedaan nukleotida dan asam amino pada DEN 4 <i>wild type</i> dan yang sudah yang dilemahkan	70
Tabel 2.7	
Kriteria gejala post vaksinasi vaksin $\Delta 30$	72
Tabel 2.8	
Respon sukarelawan post vaksinasi 2A Δ 30	73

Tabel 2.9	
Respon imunologis pada penerima vaksin	74
Tabel 2.10	
Perbandingan tingkat pelemahan pada beberapa virus DEN4	76
Tabel 2.11	
Perbandingan infeksi DEN4wt dan 2A Δ 30 pada nyamuk	77
Tabel 2.12	
Gambaran fenotip virus yang mengandung mutasi <i>charge cluster to alanine</i> pada gen NS5	79
Tabel 2.13	
Lokasi mutasi DEN4 yang dikonservasi di DEN1, DEN2, dan atau DEN3	82
Tabel 2.14	
Gambaran fenotip virus rDEN4 yang mengalami mutasi <i>double charge cluster to alanine</i> pada gen NS5	83
Tabel 2.15	
Perbandingan sifat pelemahan pada DEN1wt, DEN1mutF, DEN1 Δ 30	86
Tabel 2.16	
Mutasi Δ 30 dan mutF tidak menurunkan infektivitas rDEN1 yang diinokulasi secara intratorakal ke <i>T. Spledens</i>	88
Tabel 2.17	
Tingkat infektivitas dan imunogenesitas DEN1WP tipe liar dan DEN1mutF	93

Tabel 2.18

Tingkat infektivitas dan imunogenesitas rata-rata DEN1WP tipe liar dan DEN1mutF 94

Tabel 2.19

Hasil penelitian II; titer antibodi netralisasi dalam serum kera yang dipapar dengan 10^6 pfu DEN1WP..... 95

Tabel 2.20

Hasil penelitian II; viremia pada kera *Flavivirus naive* dan yang imun terhadap DEN1mutF setelah dipapar dengan DEN1WP..... 96

Tabel 2.21

Efikasi imunogenesitas dan protektif chimera D2/1 pada tikus AG129 108

Tabel 2.22

Imunogenesitas chimera D2/3 dan DEN2/4 pada tikus AG129 109

Tabel 2.23

Kadar antibodi netralisasi terhadap DEN2 pada tikus yang telah divaksin 117

Tabel 2.24

Respon limfosit T sitotoksik terhadap DEN2 pada tikus yang telah divaksinasi. 118

Tabel 2.25

Gambaran antibodi netralisasi dan proteksi setelah paparan virus pada kera yang telah divaksin 1-2 dosis vaksin DNA DEN2 118

Tabel 2.26

Gambaran antibodi netralisasi dan proteksi setelah paparan virus pada kera yang telah divaksin 1-2 dosis vaksin DNA DEN2 119

Tabel 3.1

Perkembangan penelitian vaksin Dengue sampai saat ini..... 125

Tabel 3.2

Perbandingan sifat berbagai macam vaksin Dengue 131

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Genom virus Dengue	5
Gambar 2.2 <i>Aedes aegypti</i>	20
Gambar 2.3 Kultur monosit 6 jam setelah diinfeksi virus DEN2	34
Gambar 2.4 Vakuola yang berisi benda-benda yang dicerna	34
Gambar 2.5 Lokalisasi DEN2 dalam vakuola monosit yang telah terinfeksi selama 6 jam	34
Gambar 2.6 Respon sel imun terhadap infeksi virus Dengue.....	45
Gambar 2.7 <i>Kunkel method</i> (Biorad Mutagenesis).....	79
Gambar 2.8 Delesi 30 nukleotida pada region 3'	85
Gambar 2.9 Mutasi <i>stem loop</i> di daerah 3' NCR.....	91

Gambar 2.10	
Perbedaan DEN1wt dan DEN1mutF	97
Gambar 2.11	
Teknik pembentukan DEN1/YF	100
Gambar 2.12	
Protein prM dan E DEN3	101
Gambar 2.13	
Konstruksi Chimera YF/DEN3	101
Gambar 2.14	
Konstruksi Chimera YF/DEN4	103
Gambar 2.15	
Vaksin subunit yang diekspresikan oleh <i>Drosophila</i>	113

DAFTAR DIAGRAM

	Halaman
Diagram 2.1	
Proses replikasi virus	12
 Diagram 2.2	
Manifestasi klinis infeksi virus Dengue	23
 Diagram 2.3	
Spektrum klinik Demam Berdarah Dengue	26
 Diagram 2.4	
Kemungkinan infeksi Dengue	28

DAFTAR GRAFIK

Halaman

Grafik 2.1

Persentase penerima vaksin dengan titer antibodi $\geq 1:10$ pada semua sukarelawan terhadap setiap serotipe, 3 serotipe, dan 4 serotipe pada hari ke-28 dan atau hari ke-60 setelah dosis pertama (n=43) dan hari ke-28 setelah dosis kedua (n=41) ... 58

Grafik 2.2

Persentase penerima vaksin dengan abnormalitas biologis pada ALT, jumlah trombosit, hitung leukosit, hitung PMN setelah dosis pertama 58

Grafik 2.3

Persentase penerima vaksin dengan abnormalitas biologis pada ALT, jumlah trombosit, hitung leukosit, hitung PMN setelah dosis kedua 59

Grafik 2.4

Persentase penerima vaksin dengan antibodi netralisasi $\geq 1:10$ untuk setiap formulasi vaksin terhadap (A) serotipe 1 dan 2, (B) serotipe 3 dan 4, (C) pada 3 serotipe dan 4 serotipe, pada hari ke-28 dan atau 60 setelah dosis pertama dan hari ke-28 setelah dosis kedua vaksin 59

Grafik 2.5

Jumlah sukarelawan yang mengalami ruam setelah divaksinasi 2AΔ30 74

Grafik 2.6

Jumlah sukarelawan yang mengalami viremia setelah divaksinasi 2AΔ30 75

Grafik 2.7

Tingkat kenaikan kadar enzim ALT pada 5 sukarelawan 75

Grafik 2.8	
Perbandingan viremia yang disebabkan oleh vaksin rekombinan	85
Grafik 2.9	
Pertumbuhan DEN1 mutF dalam sel LLCMK2 (A) dan sel C6/36 (B).....	92
Grafik 2.10	
Kadar virus dalam serum setelah infeksi 10^4 pfu DEN1WP.....	95
Grafik 2.11	
Kadar virus dalam serum sesudah diinokulasi 10^6 pfu DEN1WP.....	97
Grafik 2.12	
Ciri khas pertumbuhan chimera dalam sel LLCMK2.....	107
Grafik 2.13	
Ciri khas pertumbuhan chimera pada sel vero.....	108
Grafik 2.14	
Neurovirulensi virus chimera	110

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1.	
Gambar imunopatogenesis Demam Berdarah Dengue	149
Lampiran 2.	
Diagram mekanisme sinyal TNF α	149
Lampiran 3.	
Diagram mekanisme kerja INF α/β	150
Lampiran 4.	
Daftar gen yang diekspresikan sel yang terinfeksi virus Dengue.....	150
Lampiran 5.	
Diagram mekanisme dan kemungkinan efek yang terjadi selama infeksi virus Dengue pada endotel.....	151