

KAJIAN TENTANG KEPENTINGAN PROTEIN
BUKAN STRUKTUR, NS1, VIRUS DENGGI 2
DALAM PENYAKIT DEMAM DENGGI BERDARAH

oleh

NOOR SHAM SHAARI

Tesis diserahkan untuk memenuhi keperluan bagi
Ijazah Sarjana Sains

Julai 1991

Untuk Nik Fuad-sumber ilham dan perangsang,
dan
Nik Zulhazmi-penyeri hidup.

2001

Untuk Nik Fuad-sumber ilham dan perangsang,
dan
Nik Zulhazmi-penyeri hidup.

PENGHARGAAN

Setinggi-tinggi terima kasih diucapkan kepada Dr. M. J. Cardosa yang telah banyak memberi bimbingan, tunjuk ajar serta galakkan yang sangat dihargai. Di sebalik kesibukan beliau dan kelemahan saya sendiri, Dr. Cardosa tidak pernah gagal meluangkan masa untuk mengajar atau berbincang. Secara tidak langsung beliau telah banyak mengajar selok belok di dalam mengendalikan makmal penyelidikan dan menjadi contoh sejak saya mula mendampingi beliau lima tahun yang lalu.

Setinggi-tinggi terima kasih ditujukan kepada Prof. Mohd. Roslani Abdul Majid, Dekan PPSP, yang sentiasa memberi sokongan bukan sahaja semasa pengajian ini, tetapi, sejak saya mula bertugas di sini.

Saya juga berterima kasih kepada Encik Mustaffa Musa, Penyelaras Jabatan Imunologi yang telah membenarkan saya menyambung pengajian disamping menjalankan tugas-tugas harian.

Kakitangan makmal Virologi telah banyak membantu dalam berbagai cara semasa projek ini dijalankan. Terima kasih kepada Phaik Hooi yang bersama-sama berusaha mendapatkan gel yang baik, Hwei Sin, Zuraini, Foong Lian dan lain-lain.

Ucapan terima kasih untuk kakitangan Fotografi iaitu Ahmad Munajir dan Salim yang telah menyediakan gambar-gambar.

Terima kasih kepada Dr. Robin Gopal dari National Institute of Medical Research, Mill Hill, London yang telah mengajar menyediakan gel serta Dr. Vincent Deubel dari Institut Pasteur, Paris, yang memberikan rekombinan C3 (protein E).

SENARAI KANDUNGAN

PENGHARGAAN	iii
SENARAI KANDUNGAN	iv
SENARAI JADUAL	vi
SENARAI GAMBARAJAH	vii
SENARAI KEPENDEKAN	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	xi
BAB I	1
I.1 DEMAM DENGGI-Sepintas lalu	1
I.2 VEKTOR	2
I.3 VIRUS	3
Struktur dan ciri-ciri fizikal	3
Protein-protein virus Den 2	4
Kemasukan virus dan replikasi	6
I.4 SIMTOM	7
Demam denggi (klasik)	7
Demam denggi berdarah	7
I.5 PATOLOGI	9
I.6 EPIDEMIOLOGI	10
I.7 TEORI PATOGENESIS	15
Hipotesis peningkatan imun	15
Kompleks imun dan Pengaktifan komplemen	16
Virus dan Vektor	18
Keimunan perantaraan sel (Cell-mediated immunity)	19
Faktor perumah	20
I.8 ANTIGEN PENETAP KOMPLEMEN TERLARUT (SCF) dan NS1	21
I.9 NS1 dan TINDAK BALAS IMUN	23
I.10 OBJEKTIF KAJIAN	27
BAB II	29
II.1 ELEKTROFORESIS GEL POLIAKRILAMIDA (PAGE)	29
II.2 PEDAP WESTERN	32
Pemindahan elektro (electrotransfer)	32
Pengesanan immuno	33
II.3 UJIAN RENCATAN HEMAGLUTINAN (HAEMAGGLUTINATION INHIBITION)	35
Penyediaan sel dan spesimen	35
Titratan hemaglutinin (pengubahsuaian Portenfield)	36
Ujian rencatan hemaglutinan (pengubahsuaian Portenfield)	38

Penyerapan serum untuk ujian hemaglutinan 38

II.4 ASAI ENZIM IMUNG 39

Dot blot 39

Serum berpasangan 40

II.5 PENYEDIAAN ANTIGEN 41

Kultur sel 41

Menginokulasi dan memungut sel 41

II.6 SPESIMEN 42

BAB III 43

III.1 KESAN HABA KE ATAS PROTEIN-PROTEIN VIRUS DEN 2 43

III.1 KESAN HABA KE ATAS LISAT SEL C6/36 DAN PS CLONE D 43

III.2 SARINGAN SERUM BERPASANGAN 45

Individu normal 50

Kemunculan antibodi terhadap dimer/monomer NS1 51

Ketenatan dan jenis dominan 56

III.3 TINDAK BALAS TERHADAP PROTEIN E 58

BAB IV 64

IV.1 KESAN HABA KE ATAS PROTEIN VIRUS DEN 2 64

IV.2 TINDAK BALAS IMUN TERHADAP NS1 66

IV.3 NS1 DAN MEKANISME PATOGENESIS - Satu Cadangan 70

IV.5 CADANGAN UNTUK KAJIAN SELANJUTNYA 74

IV.6 PENUTUP 75

BIBLIOGRAFI 76

LAMPIRAN-LAMPIRAN

LAMPIRAN 1

Gambarajah: Plot terserak

LAMPIRAN 2

Jadual: Corak tindak balas terhadap protein E

LAMPIRAN 3

Jadual: Titer pencatan hemaglutinan serum berpasangan

LAMPIRAN 4

Jadual: Data-data pesakit disahkan mengidap denggi

SENARAI JADUAL

Jadual 1: Tindak balas serum individu normal terhadap dimer dan monomer NS1	52
Jadual 2: Jenis dominan dan bilangan hari selepas penyakit bermula	57
Jadual 3: Bilangan platelet dan jenis dominan . . .	61
Jadual 4: Bilangan serum yang bertindak balas dengan glikoprotein E	62

SENARAI GAMBARAJAH

Gambarajah 1:	Bilangan kes Df & DHF yang dilaporkan di Malaysia, 1973-1987	11
Gambarajah 2:	Bilangan kes DF/DHF yang dilaporkan mengikut negeri, 1986	12
Gambarajah 3:	Kesan haba ke atas lisat sel C6/36	46
Gambarajah 4:	Kesan haba ke atas lisat sel PS Clone D	47
Gambarajah 5:	Kesan haba (70°C - 80°C) ke atas lisat sel PS Clone D	48
Gambarajah 6:	Lisat sel C6/36 yang dididihkan	49
Gambarajah 7:	Contoh pedap Western pesakit D88-277	53
Gambarajah 8:	Contoh pedap Western pesakit D88-276	54
Gambarajah 9:	Kinetik kemunculan antibodi terhadap dimer dan monomer NS1	55
Gambarajah 10:	Taburan antibodi dominan dimer bagi pesakit denggi	59
Gambarajah 11:	Peratusan pesakit yang berantibodi dominan dimer	60

SENARAI KEPENDEKAN

ADCC	Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity (sitotoksiti perantara sel berasaskan antibodi)
ADE	Antibodi dependent enhancement (peningkatan infektiviti berasaskan antibodi)
BBS	Borate buffered saline (salin berpenimbal borat)
CIC	Circulating immune complexes (kompleks imun beredar)
Den	Dengue (denggi)
DF	Dengue fever (demam denggi)
DHF	Dengue haemorrhagic fever (demam denggi berdarah)
DIC	Disseminated intravascular coagulation (koagulasi intravaskular tersebar)
DSS	Dengue shock syndrome (denggi bersindrom renjatan)
FBS	Foetal bovine serum (serum fetus bovin)
FNV	French neurotropic vaccine
HI	Haemagglutination inhibition (renjatan hemagglutinan)
JE	Japanese encephalitis
KUN	Kunjin
MVE	Murray Valley encephalitis
PAGE	Polyacrilamide gel electrophoresis (elektroforesis gel poliakrilamida)
PBS	Phosphate buffered saline (salin berpenimbal fosfat)
PCS	Pooled convalescent serum (serum konvalesen terkumpul)
PT	Prothrombin time (masa protrombin)
PTT	Partial thromboplastin time (masa tromboplastin separa)
RHA	Rapidly sedimenting haemagglutinin
SCF	Soluble complement-fixing (penetap komplemen terlarut)
SDS	Sodium dodecyl sulphate (natrium dodesil sulfat)
SHA	Slowly sedimenting haemagglutinin
SLE	St. Louis encephalitis
SM	Skimmed milk (susu tanpa lemak)
TBE	Tick borne encephalitis
TBS	Tris buffered saline (salin berpenimbal tris)
TT	Thrombin time (masa trombin)
WNV	West Nile virus
YF	Yellow fever

ABSTRAK

Jangkitan virus denggi merupakan satu masalah besar di kawasan tropika mengakibatkan demam febril yang sederhana atau demam denggi berdarah dan denggi bersindrom renjatan yang lebih tenat serta boleh membawa maut. Virus-virus denggi mempunyai beberapa protein bukan struktur yang mana fungsi mereka belum lagi dipastikan. Salah satu daripada protein-protein ini iaitu NS1 telah didapati berupaya memberi perlindungan kepada mencit dan arnab yang ditentang dengan virus Den 2. Protein ini didapati wujud di dalam dua bentuk dimer dan monomer.

Di dalam kajian ini 52 pasang serum dari pesakit yang telah disahkan mengidap denggi disaring untuk antibodi terhadap NS1. Sebahagian pasangan serum juga disaringkan untuk antibodi terhadap E yang mana di sini ialah satu rekombinan.

Keputusan yang diperolehi menunjukkan bahawa antibodi terhadap dimer dan monomer NS1 hadir di dalam serum-serum ini. Pesakit demam denggi berdarah (bilangan platlet <100 000 cu. mm) menunjukkan tindak balas yang dominan dimer. Antibodi terhadap dimer muncul lebih awal dan dikesan pada kebanyakan pesakit selepas dua minggu. Sebilangan pesakit tidak mempunyai antibodi terhadap monomer. Nyata sistem imun manusia berupaya mengenali

kedua-dua bentuk NS1 dan bertindak balas dengan menghasilkan antibodi. Tindak balas imun terhadap E berkait rapat dengan titer hemaglutinin seperti yang dijangkakan, tetapi tiada lain-lain kaitan yang jelas.

Di cadangkan bahawa terdapat antibodi-antibodi dengan tiga jenis kespesifikan yang mengenali dimer, monomer dan kedua-dua bentuk NS1. Antibodi terhadap dimer mungkin terlibat di dalam patogenesis DHF dengan membentuk kompleks imun yang akan terperangkap di pelbagai tisu. Antibodi terhadap monomer pula tidak dikesan pada sebilangan kes tenat, ianya mungkin menetap komplemen kerana antigen penetap komplemen terlarut sebenarnya ialah NS1. Ini akan mengakibatkan pemusnahan sel dan pembebasan berbagai mediator yang akan menyebabkan ketenatan. NS1 dijangka penting di dalam patogenesis DHF walau pun gambaran sebenar mekanismenya belum dapat dipastikan lagi.

ABSTRACT

Dengue virus infection is a major problem in the tropics causing a mild, febrile illness or the more serious and fatal dengue haemorrhagic fever and dengue shock syndrome. Dengue viruses have several non-structural proteins whose real function is still to be determined. One of these proteins, NS1, has been shown to confer protection in mice and rabbits when challenged with Den 2 virus. This protein has been shown to exist in two forms: dimer and monomer.

In this study 52 pairs of serum from confirmed dengue patients were screened for antibodies to NS1. Some pairs were also screened for antibodies to E which in this case was a recombinant protein.

The results obtained showed that antibodies to NS1 dimer and monomer are present in these sera. Dengue haemorrhagic fever patients (platelet count $<100\ 000$ cu mm) showed a response which was dimer dominant. Antibodies to the dimer appeared earlier and was detected in most patients after two weeks. Some patients, however, did not have antibodies to monomer at all. Thus, the human immune system is capable of recognizing the two forms of NS1 and responded by producing antibodies. The antibody response to E correlated with haemagglutination

titres which was expected, but, there was no other obvious correlation.

It is speculated that there are antibodies of three types of specificities recognizing the dimer, monomer and both forms of NS1. The antibodies to dimer could be involved in DHF pathogenesis by forming immune complexes which will be deposited in various tissues. The antibodies to monomer being absent in some severe cases could very well fix complement since the soluble complement-fixing antigen is in fact NS1. This eventually might cause cell damage and release various mediators which lead to disease severity. NS1 appears to be important in the pathogenesis of DHF even though the full picture of the mechanism is yet to be worked out.

BAB I

PENGENALAN

I.1 DEMAM DENGGI-Sepintas lalu

Penyakit demam denggi adalah satu jangkitan virus yang lazim berlaku di kawasan tropika. Demam denggi boleh melarat di mana berlakunya pendarahan (demam denggi berdarah) dan yang paling teruk serta boleh membawa maut bila pesakit mengalami renjatan (denggi bersindrom renjatan). Tanda-tanda demam denggi ialah demam panas disertai dengan sakit kepala, sakit sendi dan otot, serta ruam (WHO, 1986).

Wabak atau epidemik pertama pernah dilaporkan oleh Benjamin Rush mencetus di Philadelphia pada tahun 1780 (Halstead, 1981). Nyamuk Aedes aegypti dikesan sebagai vektor atau pembawa virus denggi oleh Bancroft dalam tahun 1905. Di antara tahun-tahun 1943-1944, virus denggi telah berjaya diasingkan. Terdapat dua jenis iaitu dari Hawaii dan New Guinea lalu dinamakan denggi 1 (Den 1) dan denggi 2 (Den 2).

Lewat kurun ke 19, di Australia, penyakit demam denggi melarat iaitu terdapat tanda-tanda pendarahan, renjatan dan juga kematian. Perkara yang serupa berlaku di Athens pada tahun 1928 dan tiga tahun kemudian di Formosa.

Sindrom 'baru' ini dikesan lagi di Filipina pada tahun 1954. Berikutan kejadian ini dua lagi jenis virus denggi iaitu Den 3 dan Den 4 dikenal pasti. Selepas itu wabak-wabak besar yang sering membawa maut mencetus di India, Malaysia, Filipina, Singapura, Thailand, Vietnam dan Indonesia. Di antara 1971-1978, kejadian jangkitan virus denggi meningkat di sekitar Asia Tenggara dan rantau Pasifik Barat.

I.2 VEKTOR

Penyakit demam denggi merupakan penyakit bawaan vektor. Virus denggi disebarkan oleh nyamuk Aedes. Vektor utama ialah Aedes aegypti, subgenus Stegomyia. Lain-lain spesies seperti A. albopictus, A. polynesiensis dan A. scutellaris (Halstead, 1981) juga telah dikenal pasti sebagai pembawa virus denggi (Russell, 1981). A. aegypti telah merebak dari Afrika ke kawasan tropika dan subtropika oleh aktiviti manusia serta kemudahan pengangkutan. Ianya juga terdapat di kebanyakan kawasan Caribbean termasuk selatan Amerika Syarikat.

A. aegypti hidup berhampiran manusia, membiak di dalam air bersih umpamanya air yang disimpan untuk minuman, mandian, pasu-pasu bunga dan sebagainya. Tabiatnya menggigit di waktu siang dan berkurangan bila suhu mencapai 14°C. Jadi pada garis lintang melebihi 25° utara atau selatan, penyakit demam denggi jarang berlaku. Oleh kerana jarak penerbangan nyamuk aedes terhad, virus denggi biasanya disebarkan melalui manusia yang telah dijangkiti virus tersebut. Di kawasan tropika kes-kes

demam denggi umumnya meningkat tidak lama selepas musim monsoon bermula. Telur-telur nyamuk yang ditinggalkan di dalam bekas-bekas yang boleh menakung air di luar seperti tin-tin kosong, tayar dan tempurung, akan menetas bila dipenuhi air hujan. Dalam masa dua minggu jentik-jentik nyamuk akan membesar dan mula menggigit.

I.3 VIRUS

a. Struktur dan ciri-ciri fizikal

Virus-virus denggi tergolong dalam famili Flaviviridae. Virus berbenang tunggal RNA ini pada mulanya dikelaskan dalam famili Togaviridae, tetapi terdapat bukti-bukti nyata dari segi saiz, struktur turutan gen dan strategi replikasi (Westaway, 1987) yang melayakkan genus Flaviviridae dikelaskan sebagai satu famili baru. Taip spesies famili ini ialah virus Yellow fever (YF). Di antara virus-virus lain yang tergolong dalam kumpulan ini ialah:-Kunjin (KUN), Japanese encephalitis (JE), St. Louis encephalitis (SLE), West Nile (WNV), Murray Valley encephalitis (MVE) dan Tick-borne encephalitis (TBE). Terdapat lebih kurang 68 (Calisher et al., 1989) spesies kesemuanya.

Virus denggi berbentuk sfera, bergaris pusat 45 nm, terasnya bergaris pusat 30 nm dan di sekeliling selaput terdapat spika berukuran lebih kurang 5 nm. Keadaan-keadaan seperti pertukaran pH atau ketonikan, pusingan beku-cair atau menyimpan pada suhu 4°C lebih daripada 24 jam boleh memusnahkan virus yang fragil ini. Infektiviti virion juga sensitif terhadap pentakaktifan oleh cahaya

ultra lembayung, detergen ionik dan bukan-ionik dan pencernaan trypsin.

b. Protein-protein virus Den 2

Flavivirion mempunyai tiga jenis polipeptida. Protein selaputnya (E) berglikosil, Mr \approx 60 kilodalton membentuk spika pada permukaan luar virion. Protein membran (M), Mr \approx 8 kilodalton juga dihubungkan dengan selaput virion. Protein kapsid (C), Mr \approx 14-15 kilodalton, pula merupakan teras yang mengandungi genom RNA. Kesemuanya adalah protein struktur termasuk protein prekursor, preM (Mr \approx 20 kilodalton).

Tindak balas imun primer ke atas flavivirus ketika jangkitan ditujukan kepada epitop permukaan protein E. Aktiviti pengaglutinan juga terletak pada protein E (Trent, 1977). Glikoprotein selaput (E) virus-virus SLE, JE dan denggi mempunyai tiga kelas penentu antigenik (antigenic determinant) iaitu spesifik kepada jenis, reaktif kompleks dan penentu antigenik reaktif kumpulan flavivirus (Trent, 1977). Protein-protein E dan C virus-virus SLE, Den dan JE berkongsi sekurang-kurangnya satu antigen kumpulan yang dikesan melalui kaedah radioimunoasai bersaing (competitive radioimmunoassay) dan imuno-resapan (dipetik dari Trent, 1977).

Beberapa kumpulan penyelidik telah cuba mengenal pasti epitop-epitop yang terlibat di dalam peneutralan, hemaglutinan, peningkatan imun, tindak balas antigen bersilang yang spesifik kepada jenis dan kumpulan. Dengan

sepuluh antibodi monoklon terhadap JE, Kimura-Kuroda dan Yasui (1983) mendapati bahawa terdapat paling kurang lima penentu antigenik pada protein V3 (E). Antibodi-antibodi monoklon tersebut menunjukkan sifat-sifat bersilang HI flavivirus, spesifik kepada sub-kumpulan HI serta antibodi bukan peneutralan, HI rendah serta peneutralan tinggi, bukan HI dan antibodi peneutralan.

Schlesinger et al., (1984) telah menggunakan enam belas antibodi monoklon yang bertindak balas dengan E dari virus YF strain vaksin 17D. Antibodi monoklon tersebut mempamerkan kespesifikan terhadap strain YF, jenis atau kumpulan flavivirus. Sejumlah sembilan epitop dikesan dari corak peneutralan, HI dan persaingan penambatan antibodi.

Perbezaan pada tahap pengglikosilan pernah dilaporkan. Smith dan Wright (1985), mendapati protein E dari Den 2 yang dibiakkan dalam sel Vero bergerak lebih perlahan di dalam gel poliakrilamida (mengandungi SDS) daripada protein E Den 2 yang dibiakkan dalam sel C6/36. Tahap pengglikosilan yang berlainan ini memberi perbezaan kepada berat molekul protein E iaitu di antara 51-59 kilodalton (Brinton, 1986), bergantung kepada jenis virus. Pengglikosilan virus TBE oleh endoglikosidase tidak menjejaskan infektiviti atau aktiviti hemaglutinan (Winkler et al., 1987). Protein-protein E dan M tercipta menunjukkan aktiviti peneutralan manakala protein C tercipta ada penentu antigenik yang reaktif terhadap kumpulan.

Selain daripada protein-protein struktur ada beberapa protein bukan struktur iaitu NS5 ($M_r \approx 98$ kilodalton), NS3 ($M_r \approx 67$ kilodalton), NS1 ($M_r \approx 46$ kilodalton), ns4a, ns4b, ns2a dan ns2b. Fungsi sebenar protein-protein bukan-struktur tidak diketahui.

c. Kemasukan virus dan replikasi

Partikel virus masuk ke dalam sel melalui "coated pits" (Kielian dan Helenius, 1986; dipetik dari Westaway, 1987). Selepas 10 minit pemecahan bermula di dalam vakuol lisosom. Agregasi virus masuk lebih perlahan secara fagositosis. Setelah dibebaskan, translasi RNA virus pun bermula, kemungkinan di dalam "rough" retikulum endoplasma. Proliferasi "smooth" dan "rough" retikulum endoplasma ketara terutama selepas tempoh pendam, iaitu 12-16 jam (dipetik dari Westaway, 1987).

Virus jenis benang positif, linear ini mensintesis (-)RNA yang menjadi templat bagi formasi (+) mRNA. Replikasi terhad kepada sitoplasma. Genom sepanjang 10 700 nukleotida ini mempunyai rangka bacaan tunggal terbuka sepanjang 10 164 nukleotida (Hahn et al., 1988). Susunan gennya ialah 5'-C-preM-E-NS1-NS2a-NS2b-NS3-NS4a-NS5-3' (Rice et al., 1985). Proses-proses seterusnya seperti pengglikosilan (pada E, NS1 dan preM) dan belahan berjalan. Tapak belahan bagi preM, E dan NS1 sama seperti yang dikenali oleh signalase sel atau didahului oleh sepasang asid amino berbes (bagi M, NS3 dan mungkin NS5).

Virus matang dan partikel padat kelihatan 24 jam selepas infeksi (Hase et al., 1987) di sitoplasma dan di sebelah luminal membran vakuol dan di kedua-dua belah membran plasma. Partikel padat adalah nukleokapsid denggi yang dicantumkan di dalam sitoplasma dan bertunas ke lumen vakuol dan ruang ekstraselular di membran vakuolar dan plasma. Dalam proses ini ia memperolehi selaput dan menjadi virion matang. Virion di lumen vakuol dibebaskan secara eksositosis.

I.4 SIMTOM

a. Demam denggi (klasik)

Jangkitan virus denggi boleh mengakibatkan demam febril tanpa perbezaan, demam denggi (DF) atau demam denggi berdarah (DHF). Selepas tempoh pengeraman selama 2-7 hari, demam menyerang secara tiba-tiba di mana suhu meningkat ke 39.5° - 41.4° C (Halstead, 1981). Sakit kepala, sakit otot dan sendi serta ruam juga dialami. Sehari atau dua selepas defervesens, ruam timbul semula dan suhu badan meningkat. Ini menghasilkan kelok suhu dwi-fasa (biphasic temperature curve). Pendarahan kecil mungkin berlaku bila-bila masa ketika serangan ini.

b. Demam denggi berdarah

Serangan fasa pertama agak ringan iaitu demam dengan tiba-tiba, malaise atau dedar, muntah, sakit kepala, anoreksia, batuk dan lain-lain gejala menyerupai demam denggi. Di peringkat ini ujian tourniket adalah positif dan/atau petekia muncul. Suhu badan tinggi selama 2-7 hari dan ini boleh mengakibatkan sawan (convulsion) bagi

bayi. Di akhir tempoh febril iaitu selepas 3 hari, suhu badan turun tiba-tiba di sertai gangguan pengaliran darah, keresahan serta sejuk kaki dan tangan. Bagi kes-kes yang teruk, pesakit bertambah tenat. Dalam keadaan ini, ketelapan kapilari (indikasinya ialah peningkatan hematokrit), trombositopenia, hipoalbuminemia dan efusi pleura berlaku.

Limpahan plasma ini membezakan DHF dari DF (WHO, 1986). Renjatan terjadi bila kehilangan plasma menjadi kritikal. Kerap kali pesakit mengalami sakit yang akut di bahagian abdomen sebelum renjatan bermula. Trombositopenia mendahului peningkatan hematokrit sebelum demam atau renjatan reda. Oleh itu mengesan bilangan platlet dan paras haematokrit adalah penting dari segi diagnosis dan prognosis (Nimmannitya, 1983).

Pesakit yang mengalami DHF terbahagi kepada empat golongan mengikut ketenatan (Nimmannitya et al., 1969; WHO, 1986).

Gred I: . demam, ujian tourniket positif.

Gred II: demam, pendarahan kulit atau lain-lain pendarahan, seperti gusi/hidung.

Gred III: kegagalan pengaliran darah, nadi cepat dan lemah, hipotensi.

Gred IV: tekanan darah dan nadi tidak dapat dikesan.

Gred III dan IV: denggi bersindrom renjatan (DSS).

Tempoh renjatan singkat dan membawa maut jika tidak dirawat dengan segera atau betul. Pemulihan DHF adalah

singkat, 2-3 hari walau pun mengalami renjatan yang serius.

I.5 PATOLOGI

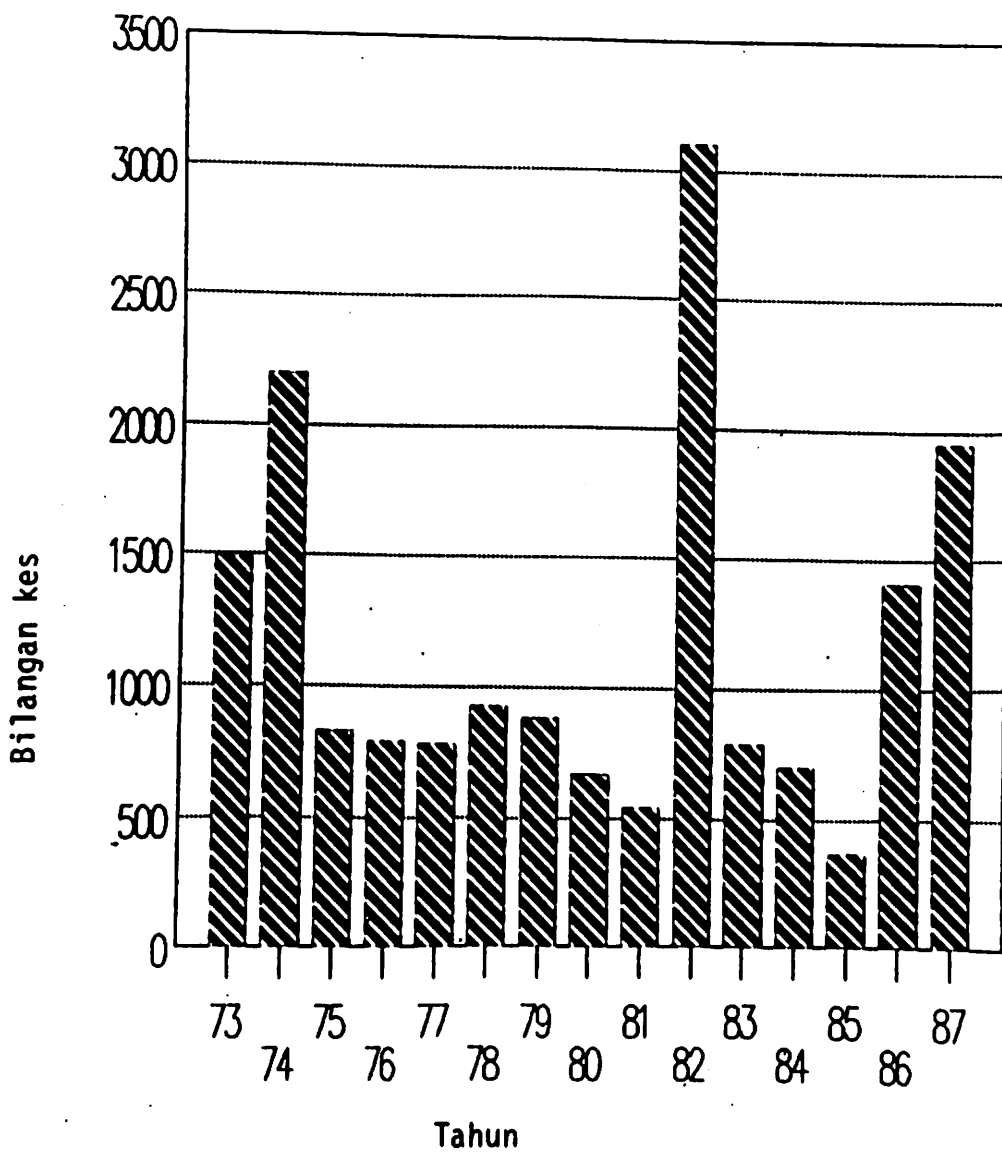
Fagosit mononukliar (makrofaj) adalah sel sasaran dan lokasi utama bagi replikasi virus (Halstead, 1983). Organ-organ limfoid termasuk nodus limfa dan limfa merupakan lokasi pembiakan virus. Antigen juga telah dikesan di dalam sitoplasma leukosit mononukliar kulit, sinusoid hepatik, alveolus dan korteks timus. Perubahan-perubahan utama pada tisu dan organ-organ yang terlibat termasuk sum-sum tulang, ginjal dan paru-paru dapat dilihat melalui mikroskop (Monath, 1986). Sel-sel Kupffer mengalami hipertrofi dan nekrosis. Pematangan megakariosit di dalam sum-sum tulang terbantut. Simtom-simtom klinikal ini muncul serentak dengan pembersihan virus daripada darah dan tisu. Virus diperolehi daripada leukosit darah periferi (PBL) di akhir tempoh viraemia. Berakhirnya tempoh viraemia diikuti dengan renjatan. Ada kemungkinan pembersihan imun dan pembentukan kompleks imun mempunyai fungsi dalam patogenesis DHF/DSS. Di awal peringkat akut infeksi sekunder denggi, sistem komplemen diaktifkan dengan pesat. Semasa renjatan, C1q, C3, C4, C5-8 dan proaktivator C3 berkurangan (Halstead, 1981) dan penggunaan C3 meningkat. Sistem pembekuan darah dan fibrinolitik juga diaktifkan. Mediator-mediator khusus yang mengakibatkan ketelapan vaskular belum dikesan lagi (WHO, 1986).

Koagulasi intravaskular tersebar (disseminated intravascular coagulation, DIC) lazim berlaku dalam kes-kes DHF, 82% bagi gred III dan IV dan 12% bagi gred II). Ia berhubung kait dengan ketenatan pesakit (Nimmannitya, 1983). Masa tromboplastin separa (Partial Thromboplastin time, PTT) dan masa trombin (Thrombin Time, TT) kerap kali abnormal dibandingkan dengan masa protrombin (Prothrombin Time, PT) (WHO, 1986). Fibrinogen merupakan satu-satunya faktor pengaglutinan yang sentiasa berkurangan (WHO, 1986). Sejak dari mula jangkitan denggi dikenali, terdapat laporan mengenai gangguan neurologikal (Angsubhakorn et al., 1987), walau bagaimana pun laporan-laporan kajian haruslah ditafsirkan dengan berhati-hati. Bukti-bukti menunjukkan bahawa ianya bukan hasil jangkitan sistem saraf pusat.

I.6 EPIDEMIOLOGI

Di Asia Tenggara kes-kes jangkitan virus denggi berlaku sepanjang tahun. Beberapa tahun sekali epidemik mencetus iaitu pada tahun 1982, 1986 dan 1987 di Malaysia. Gambarajah 1 menunjukkan bilangan kes-kes demam denggi dan demam denggi berdarah yang dilaporkan dari tahun 1973-1987. Dan bilangan kes-kes yang dilaporkan sepanjang tahun 1986 mengikut negeri adalah seperti di dalam gambarajah 2. DHF/DSS kerap kali menyerang kanak-kanak pada dua peringkat umur iaitu bayi berumur 5-11 bulan dan kanak-kanak 6-7 tahun (WHO, 1986). Serangan DHF khusus bagi kanak-kanak di mana majoritinya berumur di antara 5-9 tahun (Nimmannitya, 1987; Kanai dan Sompop, 1983). Kanak-kanak di bawah satu tahun didapati mempunyai

Gambarajah 1. Bilangan kes DF & DHF yang dilaporkan di Malaysia, 1973-1987



Data dari Kementerian Kesihatan, Malaysia.