

RINGKASAN

Manifestasi klinis, profil serologis dan genotip virus campak di Jawa

Penyakit campak sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan di banyak negara, baik di negara yang sudah maju maupun di negara yang sedang berkembang, dan juga merupakan penyakit yang sangat menular diantara penyakit menular lainnya. Sebelum era imunisasi campak, didapatkan sekitar 5,7 juta anak meninggal dunia setiap tahunnya. Dengan dilaksanakannya program imunisasi campak sejak tahun 1963 di Amerika Serikat, angka kesakitan dan angka kematian karena campak menurun dengan drastis sampai 86%. Tetapi sejak 1989 – 2001, angka kesakitan dan angka kematian ini meningkat lagi. Laporan dari WHO tahun 2000 menunjukkan terdapat 1,7 juta kematian yang disebabkan oleh karena penyakit yang dapat dicegah dengan imunisasi (*vaccine-preventable diseases*), 777.000 diantaranya disebabkan oleh campak. Dengan pemberian imunisasi diharapkan akan memberi kekebalan seumur hidup (*life-long immunity*).

Di Indonesia, program imunisasi campak telah dilaksanakan secara nasional sejak 1981. Pada 1997, angka cakupan imunisasi campak tingkat nasional telah mencapai 94%. Akan tetapi sampai saat ini masih sering dijumpai kasus penyakit campak dan masih sering dilaporkan terjadinya letupan wabah maupun Kejadian Luar Biasa (KLB). Banyak anak yang sudah mendapat imunisasi campak tetapi masih bisa terkena penyakit campak, sehingga telah terjadi ketidakberhasilan imunisasi campak. Banyak faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya kegagalan imunisasi campak, yaitu faktor hospes, lingkungan dan *agent*. Dari faktor *agent*, penyebabnya bisa karena pengaruh virus vaksin campak yang dipakai, perlakuan/pendistribusian vaksin (*cold-chain*), dan kemungkinan adanya perbedaan genotip virus campak. Dibeberapa

negara dengan tingkat cakupan imunisasi campak yang tinggi dan sudah tidak didapatkan infeksi campak *indigenus*, masih timbul wabah penyakit campak karena adanya kasus impor.

Telah banyak usaha-usaha yang dilakukan untuk mengurangi angka ketidak berhasilan imunisasi campak ini. Salah satu usaha untuk memberantas penyakit campak ini adalah dengan melakukan penelitian di bidang surveilans laboratorium, dimana salah satu komponennya adalah melakukan kegiatan epidemiologi molekuler. Epidemiologi molekuler menyokong epidemiologi klasik dalam hal mencari sumber impor virus dengan mendapatkan genotip virus campak penderita dibandingkan dengan genotip yang telah beredar dalam suatu negara/wilayah.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis-jenis gejala klinik penderita campak di Jawa, dalam hal ini diwakili penderita campak dari provinsi Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur. Kemudian dilakukan pemeriksaan serologis dengan metode *ELISA* untuk melihat kadar IgM dan IgG, dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan sekuensing DNA dan analisis filogenetik untuk menentukan genotip virus campak.

Penentuan jenis gejala klinik penderita campak dilakukan sesuai dengan kriteria gejala klinik oleh *WHO* tahun 1993, dan dilakukan oleh satu atau dua orang dokter spesialis anak senior/konsultan (SpA[K]). Selanjutnya dilakukan pemeriksaan serologis untuk menentukan IgG dan IgM dengan metode *Anti-Measles viruses ELISA IgG dan IgM (EUROIMMUN- Medizinisch Labordiagnostika AG)*. Pemeriksaan genotip virus campak dilakukan dengan memeriksa serum penderita campak yang diambil dari penderita campak pada hari kedua atau ketiga timbulnya ruam. Kemudian dilakukan ekstraksi RNA, amplifikasi DNA dengan melakukan pemeriksaan RT-PCR dengan primer sesuai yang dianjurkan *WHO* 2005. Selanjutnya dilakukan pemurnian

produk PCR, sekuensing DNA, kemudian analisis filogenetik dan didapatkan genotip virus campak dari penderita tersebut. Ternyata pada waktu mengadakan pemeriksaan untuk mendapatkan genotip virus campak mengalami kesukaran dan hambatan yang cukup memakan banyak waktu. Walaupun pemeriksaan telah dilaksanakan sesuai dengan *Standard Protocols for RT-PCR for Molecular Epidemiology, Measles Virus section, CDC*, tetapi belum bisa memberi hasil. Dengan berbagai usaha dan penggantian primer yang lebih murni dari primer pertama, bisa didapatkan hasil pemeriksaan genotip.

Hasil pemeriksaan jenis gejala klinis menunjukkan adanya jenis campak modifikasi pada 2 bayi golongan umur 5-<9 bulan, pada golongan umur 9 bulan – <6 tahun didapatkan 6 penderita campak klasik dan satu penderita campak modifikasi, dan pada golongan umur 6-13 tahun didapatkan 11 penderita campak klasik dan 3 penderita campak modifikasi. Tidak didapatkan jenis penderita campak atipikal, hemoragis maupun campak pada penderita *immunocompromised*. Hasil pemeriksaan IgG dan IgM terhadap virus campak sangat bervariasi tergantung pada umur penderita, status imunisasi : belum mendapat imunisasi, sudah mendapat imunisasi satu kali (pada umur 9 bulan) atau dua kali pada waktu dilakukan BIAS untuk anak Sekolah Dasar. Pada golongan umur 5-<9 bulan didapatkan 2 bayi dengan IgG(-)/IgM(-) dan satu bayi IgG(+)/IgM(+). Pada golongan umur 9 bulan – <6 tahun didapatkan 1 anak IgG(-)/ IgM(-), 1 anak IgG(+)/IgM(+) dan 5 anak IgG(-)/IgM(+). Sedang pada golongan umur 6-13 tahun didapatkan 2 anak IgG(+)/IgM(+), 5 anak IgG(-)/IgM(+), 7 anak IgG(+)/IgM(-). Pada pemeriksaan genotip virus campak didapatkan dua penderita dari Solo (MV-7-Solo dan MV-16-Solo) dengan genotip D9 dan satu penderita dari genotip G3 (MV-14-Solo). Genotip D9 telah didapatkan oleh WHO dari penderita asal Bali (MVi/Victoria.AUS/24.99) dan G3 dari Gresik

(MVi/Gresik.INO/17.02). Satu penderita dari Bandung (MV-25-Bandung) termasuk dalam genotip D9. Oleh WHO telah dinyatakan bahwa di Indonesia beredar genotip G3 dan D9. Sebelumnya, pada tahun 1997 juga telah didapatkan genotip G2 (Mvi/Amterdam.NET/49.97) penderita berasal dari Jakarta. Jadi di Indonesia terdapat 3 genotip, yaitu D9, G2 dan G3. Didapatkan dua penderita dari Solo dengan genotip D9 dan G3, satu penderita dari Pacitan (Jawa Timur) dengan genotip G3 dan satu penderita dari Bandung dengan genotip D9. Dari sampel penderita yang lainnya, walaupun dari pemeriksaan elektroforesis didapatkan adanya *band* (yang menunjukkan keberadaan virus), tapi belum memberikan hasil yang dapat dianalisis genotip virus campak pada pemeriksaan sekuensing DNA. Hal ini kemungkinan karena *primer* yang digunakan tidak bisa melekat pada virus yang bersangkutan karena adanya variasi nukleotida, atau telah terjadi mutasi pada virus. Hal ini terbukti pada salah satu virus (MV-16 Solo) yang mengalami delesi pada 36 nukleotida pada posisi nukleotida ke 1288 sampai 1324.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan adanya variasi gejala klinik campak, baik dari jenis, titer IgG dan IgM-nya. Dari pemeriksaan genotip virus campak didapatkan dua genotip, yaitu genotip D9 dari satu penderita asal Solo dan satu penderita asal Pacitan, dan satu penderita Bandung, dan genotip G3 dari penderita asal Solo. Sampai saat ini ada tiga genotip virus campak di Indonesia, D9, G3 dan G2. Virus campak genotip G2 telah dipublikasi oleh WHO (WHO 2005) dan didapatkan beredar di Indonesia dan Malaysia. Dengan adanya tiga genotip virus campak di Indonesia tersebut, maka seorang anak yang sudah pernah menderita campak, dapat menderita campak lagi apabila ter-infeksi virus campak dengan genotip yang berbeda.

SUMMARY

Clinical manifestations, serologic profiles and measles viral genotypes in Java

Measles still become one of the health issue in most countries and it is the most contagious disease. Before measles immunization era, about 5,7 fatal cases every year were found. Since measles immunization programmed carried out in United Stated at 1963, the morbidity and mortality rate caused by measles was decreased until 86%. But during 1989-1991, there was an increased of the patients. The 2000 Annual WHO report indicate 1,7 million death caused by diseases which actually can be prevented by immunization (vaccine-preventable diseases), and 777.000 were attributed to measles. Giving immunization expected make life-long imunity.

The measles immunization program in Indonesia was held from 1981. In 1997, the national immunization coverage reached out 94%. However, until now there are still occur many measles disease or measles out break, and there are many children who have had measles immunization still can suffer from measles. There are many factor contributed to the failure of immunization program, that is: host factor, environment factor, and agent factor. The agent factor can be caused by the affect of virus vaccine in measles that used, vaccine procedure or distribution (cold chain), and the possibility of genotype differences in measles virus. In many countries with higher measles immunization coverage with no indigenous measles cases, infection still can be found from the infection caused by imported cases.

There are many effort have been done to minimize this unsuccessful immunization program. One of the effort is to do laboratory measles surveillance , the part of it was to do molecular epidemiology. The molecular epidemiology support

classic epidemiology in finding the source of imported virus, which compare the measles virus genotype patient with genotype in one area/country.

The purpose of this research is to find out the clinical measles symptoms and the measles genotype in Java. In this case represented by patients in West Java, Central Java, and East Java. The serologic examination was carried out by ELISA methods to find IgG and IgM level and phylogenetic analysis examination also carried out to determine the measles virus genotypes.

The clinical symptoms was determined according to the clinical symptoms criteria by WHO 1993, and examined by one or two senior pediatrician/consultant pediatrician (SpA[K]). The serologic examination carried out to determine IgG and IgM using Anti Measles Viruses ELISA IgG and IgM (EUROIMMUN-Medizinisch Labordiagnostika AG). The genotype measles virus examination conducted by examining measles patient serum which taken from measles patient on day two or three of rash. Then, conducting RNA extraction, DNA amplification by RT-PCR examination using primer according to 2005th WHO recommendation, conducting PCR purifying, DNA sequencing, phylogenetic analysis, and genotyping the patient's measles virus. Some difficulty which take a lot of time occurred during the examination to get the measles virus genotype. Even though the examination conducted exactly according to the Standard Protocols for RT-PCR for Molecular Epidemiology, Measles Virus section, CDC, there was still no result. But after replacing first primer (Pro Laboratory) with second primer (Inv Laboratory), the result can be detected..

The result examination on clinical symptoms shows the presence of modified measles on two babies age 5 - <9 month old, on age 9 month -<6 year old shows 6 classic patients and one modified patient, and age 6-13 year there are 11 classic

measles and 3 modified measles. There was no atypical measles patient, hemorrhagic nor measles on immunocompromised patient. The IgG and IgM examination results varied depend on patient's age, immunization status: has not been immunized, once immunized (9 month old) or twice immunized during BIAS (Measles School Immunization Program) for elementary school. Age 5 - <9 month shows 2 infants with IgG(-)/IgM(-) and 1 infant with IgG(+)/IgM(+). Age 9 month -<6 year shows 1 child with IgG(-)/IgM(-), 1 child with IgG(+)/IgM(+), and 5 children with IgG(-)/IgM(+). While age 6-13 year shows 2 children with IgG(+)/IgM(+), 5 children IgG(-)/IgM(+), and 7 children IgG(+)/IgM(-). Genotype examination shows 2 patients from Solo genotype D9 and 1 patient genotype G3. Genotype D9 has been found on patient from Bali (MVi/Victoria.AUS/24.99) and G3 has been found on patient from Gresik (MVi/Gresik.INO/17.02) by the WHO. One patient from Bandung included in D9 genotype. WHO publication stated that, genotype G3 and D9 has been circulating in Indonesia. Formerly, on 1997 genotype G2 (MVi/Amsterdam.NET/49.97) was found in patient from Jakarta. So, in Indonesia there are 3 measles genotypes, D9, G2, and G3. We found 2 patients from Solo with D9, one patient with G3, and one patient from Bandung with genotype D9.

In conclusion, clinical manifestation of measles found on this study was based on the types, the results of the IgG and IgM examination. The result from genotype examination was : there are two measles genotypes, D9 genotype in patient from Solo and Bandung, and G3 genotype in patient from Solo. So, there are 3 measles genotype in Indonesia: D9, G3, and G2. G2 genotype has been circulating in Indonesia. Those 3 genotypes can answer the question why children who has had measles with one genotype still can suffer from measles with different genotype.

ABSTRACT

Clinical manifestations, serologic profiles and measles viral genotypes in Java

Measles is one of the most infectious of vaccine-preventable diseases. With measles immunization program, the morbidity and mortality has decreased drastically. Nowadays, outbreaks still occur and children who have had measles still can suffer from measles again.

OBJECTIVES. To study the clinical symptoms of the measles patients, the serologic profiles of IgG and IgM and to identify the genotypes of the measles found in Indonesia.

METHODS. Examination of the clinical symptoms of 24 measles patients from four provinces in Indonesia (West Java, Central Java, and East Java) were performed during December 2005 until May 2006. The serologic assay to determine their measles-specific IgG and IgM were carried out by using Anti- Measles Viruses ELISA IgG and IgM (EUROIMMUN, Medizinische Labordiagnostika AG). The molecular epidemiological analysis was carried out by identifying measles genotype with RT-PCR using primer as recommended by Standard Protocols for RT-PCR for molecular epidemiology (Measles Virus Section, CDC 2005), electrophoresis, DNA sequencing and phylogenetic analysis of measles viruses.

RESULTS. The results of clinical symptoms examination shows the classic measles on one infant and modified measles on two infants age 5 - <9 month, on age 9 month - <6 year shows six classic measles patients and one modified measles patient, and on age 6-13 year shows eleven classic measles patients and three modified measles patients. IgG and IgM examination results are varied depend on patient's age, and

immunization status. On age 5 - <9 month shows two infants with IgG(-)/IgM(-) and one infant with IgG(+)/IgM(+). On age 9 month -<6 year shows one child with IgG(-)/IgM(-), one child with IgG(+)/IgM(+), and five children with IgG(-)/IgM(+). While on age 6-13 year shows two children with IgG(+)/IgM(+), five children with IgG(-)/IgM(+), and seven children with IgG(+)/IgM(-). Genotype examination shows two patients from Solo with genotype D9 and one patient with genotype G3. One patient from Bandung was genotype D9. According to WHO, in Indonesia there are 3 measles genotypes, D9, G2, and G3.

CONCLUSIONS. There are 2 types of measles clinical symptoms with several level of IgG and IgM, and two measles genotype, D9 and G3. With the presence of three genotypes measles virus in Indonesia, D9, G2 and G3, therefore a child who has had measles can be suffered from measles again.

Keywords : measles genotype D9 G2 G3, RT-PCR measles virus, molecular epidemiology.