

Vaksin Pneumokokus Berbasis Protein (*Pneumococcal Protein Vaccine : PPrV*) Model *Trivalent* Terkonjugasi Adjuvan Aluminium dengan Administrasi Intranasal sebagai Metode Vaksinasi Terbaru untuk Pencegahan Pneumonia pada Balita

Eddy Zulfikar¹, Farhan Naufal Arif¹, Imam Hermansyah¹

ABSTRAK

Pneumonia merupakan penyakit infeksi pernapasan akut yang menyerang alveoli paru-paru. Menurut WHO, Pneumonia merupakan penyebab utama kematian pada balita di seluruh dunia. Saat ini, vaksin pneumokokus konjugat (*Pneumococcal Conjugate Vaccine: PCV*) dijadikan sebagai vaksin utama yang direkomendasikan untuk mencegah pneumonia pada balita. Namun, nyatanya PCV masih memiliki banyak keterbatasan dikarenakan komposisi *serotype*-nya. Oleh karena itu, dibutuhkan inovasi terbaru terkait dengan vaksin beserta metode yang lebih efektif dalam program vaksinasi pneumonia pada balita. Untuk mengetahui jenis vaksin beserta metode administrasi yang efektif untuk mencegah pneumonia pada balita. *Literature review* ini disusun berdasarkan metode studi pustaka dengan cara mengumpulkan berbagai referensi yang valid mengenai efektivitas vaksin pneumokokus berbasis protein (PPrV) model *trivalent* (PhtD, PcpA, dan PlyD1) dengan adjuvan aluminium dengan metode administrasi secara intranasal sebagai metode vaksinasi terbaru untuk mencegah pneumonia pada balita. Pada bayi (42-49 hari) maupun batita (12-13 bulan), vaksinasi dengan PPrV mampu meningkatkan konsentrasi antibodi terhadap ketiga antigen protein yang diujikan. Untuk respon antibodi yang maksimal, pada bayi diperlukan adanya penambahan adjuvan aluminium dengan tiga kali tahapan vaksinasi menggunakan formula antigen protein sebesar 25µg atau 50µg. Sedangkan untuk batita, peningkatan antibodi yang signifikan dapat diperoleh melalui vaksinasi dosis tunggal dengan formula 50 µg dengan adjuvan yang sama. Administrasi PPrV secara intranasal dipilih karena mampu menginduksi imunitas mukosa dengan respon memori sel B dan sel T dalam jangka waktu yang lebih lama, serta meminimalisir efek samping dan rasa sakit. Penggunaan PPrV model *trivalent* (PhtD, PcpA, dan PlyD1) dengan adjuvan aluminium dengan metode administrasi secara intranasal, mampu meningkatkan konsentrasi antibodi bayi maupun batita sebanyak dua hingga empat kali lipat, mampu menginduksi sistem imun mukosa dengan respon sel memori yang lebih lama, juga minim efek samping dan rasa sakit saat vaksinasi.

Kata Kunci: administrasi intranasal, aluminium, pneumonia, PPrv, *trivalent*

ABSTRACT

Pneumonia is an acute respiratory infection that attacks the lung alveoli. According to WHO, pneumonia is the main cause of death in children under five years old in the world. Currently, pneumococcal conjugate vaccine (PCV) is used as the main vaccine that recommended for preventing pneumonia in infants. However, in fact PCV still has many limitations due to its serotype composition. Therefore, the latest innovations related to vaccines are needed along with more effective methods in pneumonia vaccination programs in infants. To find out the type of vaccine and the effective method of administration to prevent pneumonia in infants. Literature review was compiled based on literature study method by collecting valid references on the effectiveness of trivalent model (PhtD, PcpA, and PlyD1) protein-based pneumococcal vaccine (PPrV) with aluminum adjuvant by intranasal administration as the latest vaccination method to prevent pneumonia in infants. In infants (42-49 days) and toddlers (12-13 months), vaccination with PPrV is able to increase the concentration of antibodies against all three protein antigens that tested.

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar



For the maximum antibody response, an infant is required to add aluminum adjuvants with three stages of vaccination using a formula of 25µg or 50µg protein antigen. Intranasal administration PPrV is chosen because it is able to induce mucosal immunity with a longer memory response of B cells and T cells in a period of time, and minimize the side effects and pain. As for toddlers, the significant increase in antibodies can be obtained through a single dose vaccination with a 50 µg formula with the same adjuvant. The use of trivalent PPrV models (PhtD, PcpA, and PlyD1) with aluminum adjuvants by intranasal administration method, can increase the concentration of antibodies in infants and toddlers from two to four times, able to induce the mucosal immune system with a longer memory cell response, and make minimum side effects also pain during vaccination.

Keywords: aluminum, intranasal administration, pneumonia, PPrV, trivalent

PENDAHULUAN

Pneumonia merupakan salah satu jenis penyakit infeksi pernapasan akut yang menyerang alveoli paru-paru, menyebabkan alveoli terisi oleh pus maupun cairan yang pada akhirnya berujung pada timbulnya rasa nyeri ketika bernapas dan intake oksigen menjadi terbatas.^[1] Pneumonia dapat terjadi pada segala jenis usia, namun bayi dengan usia ≤ 2 tahun dan orang tua yang berumur ≥ 65 tahun merupakan kelompok dengan faktor risiko yang lebih besar untuk terserang pneumonia.^[2]

Pneumonia merupakan penyebab utama kematian balita di seluruh dunia. Berdasarkan data terbaru yang dimuat di laman resmi WHO, pada tahun 2015 tercatat ada 920.136 atau setara dengan 16% balita yang meninggal dunia akibat pneumonia, dengan kasus terbanyak terjadi di Asia Selatan dan Afrika bagian sub-Sahara.^[1] Di Indonesia sendiri, menurut data Kementerian Kesehatan RI, pada tahun 2015 terdapat 554.650 kasus pneumonia pada anak, dengan angka kematian balita akibat pneumonia sebesar 0,16%, lebih tinggi dibandingkan dengan tahun 2014 yang sebesar 0,08%.^[3]

Pneumonia dapat disebabkan oleh berbagai jenis agen penginfeksi, seperti bakteri, virus, maupun jamur.^[1] *Streptococcus pneumoniae* (Spn) adalah bakteri gram positif berkapsul yang menjadi penyebab utama pneumonia pada anak dan dewasa, baik itu yang bersifat invasif (*Invasive Pneumococcal Disease*)

seperti *meningitis* dan *bacterimia*, maupun yang sifatnya non-invasif seperti *otitis media*, *sinusitis*, dan *conjunctivitis*.^[4]

Dalam rangka mengurangi tingkat mortalitas dan morbiditas pada balita akibat pneumonia, serta mewujudkan target *Millennium Development Goals* ke-4 (MDG 4) yakni mengurangi angka kematian balita sebanyak dua per tiga, maka WHO bersama dengan UNICEF, membentuk *The Integrated Global Action Plan for the Prevention and Control of Pneumonia and Diarrhoea (GAPPD)*. Dalam GAPPD, disebutkan bahwa langkah pencegahan (*preventing*), yaitu melalui imunisasi merupakan strategi yang paling efektif untuk mengurangi kasus kematian balita akibat pneumonia. Beberapa vaksin telah diakui khasiatnya dalam mencegah pneumonia pada balita, diantaranya adalah vaksin pertusis, campak, *Haemophilus Influenzae* tipe b (Hib) dan pneumokokus (*Pneumococcal Conjugate Vaccine: PCV*).^[5] Mengingat bahwa Spn adalah bakteri tersering penyebab pneumonia pada balita^[1], maka CDC merekomendasikan vaksin pneumokokus (PCV) sebagai vaksin utama untuk mengatasi masalah tersebut.^[6]

Berdasarkan jumlah *serotype* Spn yang terkandung di dalamnya, terdapat tiga jenis vaksin PCV yang beredar di pasaran, yakni PCV-7, PCV-10, dan PCV-13 yang dapat digunakan untuk bayi berusia 6 minggu hingga anak-anak usia 5 tahun.^[7] Namun, seiring berjalannya waktu, PCV 7 telah dihilangkan peredarannya di pasar negara-negara maju.^[8] Walaupun telah terbukti efektif



untuk melawan pneumonia^[6], nyatanya vaksin PCV masih memiliki banyak keterbatasan dikarenakan komposisi *serotype*-nya, seperti hanya dapat menginduksi sistem imun spesifik yang terbatas pada *serotype* bakteri, juga seringkali *serotype* yang terkandung dalam vaksin tidak sesuai dengan jenis rantai Spn yang ada pada tubuh pasien.^[9,10] Tak hanya itu, setelah pengenalan vaksin PCV-7, kasus pneumonia invasif dan *acute otitis media* (AOM) dilaporkan meningkat secara dramatis, diikuti dengan bermunculannya rantai Spn yang resisten terhadap berbagai antibiotik yang ditujukan kepada anak-anak.^[9,11,12] Kejadian ini membuat banyak ilmuwan mulai berinovasi untuk mengembangkan vaksin jenis lain, salah satunya adalah vaksin pneumokokus berbasis protein (*Pneumococcal protein vaccine* : PPrV) yang apabila dibandingkan dengan PCV, dinilai lebih mudah dan murah untuk diproduksi, mampu melindungi terhadap lebih banyak *serotype* Spn, dan tentunya terhindar dari masalah pergantian *serotype* ketika digunakan.^[10] Berdasarkan hal tersebut, dilakukanlah *literature review* untuk mengkaji potensi PPrV sebagai vaksin terbaru untuk mencegah pneumonia pada balita.

PEMBAHASAN

Kunci dalam Mengembangkan PPrV adalah dengan Memahami Patogenesis dari Spn

Spn merupakan bakteri komensal yang ditemukan pada nasofaring dan hanya bersifat patogenik apabila terjadi perubahan pada nasofaring tersebut. Umumnya, perubahan itu disebabkan oleh infeksi virus pernapasan atas (*viral upper respiratory infection*) yang mengakibatkan Spn mencapai fase patogeniknya.^[13-15] Pada model tikus^[16], diketahui infeksi virus influenza pada nasofaring, di samping menimbulkan respon imun pada *host*, juga secara sinergis menyebabkan

koloni Spn meningkat secara drastis pada fase patogenik.^[17]

Patogenesis dari Spn juga ditentukan oleh banyaknya Spn bawaan (*carriage*) yang dapat ditemukan pada nasofaring. Secara umum, anak-anak di negara berkembang memiliki jumlah dan kepadatan Spn yang lebih tinggi dibandingkan dengan anak-anak pada negara maju. Hal ini dapat dikatakan sebagai sesuatu yang menguntungkan dalam tahapan imunisasi, sebab kolonisasi Spn yang lebih banyak akan lebih mudah untuk memacu terbentuknya antibodi spesifik dan imunitas seluler dari tubuh *host*.^[18-21] Dengan kata lain, kolonisasi merupakan salah satu syarat yang harus terpenuhi dalam tahapan patogenesis dari Spn.^[22]

PCV mencegah pneumonia dengan cara mengeliminasi seluruh koloni Spn yang ada pada nasofaring^[23], sedangkan PPrV didesain untuk mencegah pneumonia dengan cara mengurangi jumlah koloni Spn hingga di bawah ambang batas patogeniknya. Hal ini menyebabkan PPrV bersifat lebih potensial dalam membentuk *priming* dan *boosting* vaksin yang lebih kuat dibandingkan dengan PCV yang memiliki kemampuan yang lebih rendah dalam menginduksi respon memori akibat musnahnya seluruh koloni Spn saat vaksinasi pertama kali.^[24]

Kandidat Protein untuk *Pneumococcal Protein Vaccine* (PPrV)

Antigen protein yang sedang ramai dikembangkan oleh ilmuwan sekarang merupakan kelompok protein yang diperoleh dari seluruh *serotype* Spn dan bersifat imunogenik terhadap sistem imun tubuh.^[19, 25-28] Setidaknya, ada lima jenis protein yang aktif dikembangkan oleh para ilmuwan saat ini, yaitu PhtD, PhtE, PcpA, LytB, dan Ply.^[24]

Pneumococcal histidine triad protein-D (PhtD) dan *Pneumococcal histidine triad protein-E* (PhtE) merupakan golongan protein yang terekspresi pada permukaan Spn, yang sebagian besar



dikenali melalui *histidine triad motif*-nya. Diantara keluarga protein Pht (PhtD, PhtE, PhtA, dan PhtB), PhtD merupakan jenis protein dengan variasi yang paling terbatas, namun mampu diekspresikan oleh seluruh rantai Spn yang telah ditemukan sejauh ini, tidak jauh berbeda dengan PhtE yang diketahui telah terekspresikan oleh sekitar 97% rantai Spn.^[25]

PhtD dan PhtE telah dikenali akan perannya sebagai *adhesins* yang dibutuhkan dalam proses perlekatan Spn ke sel epitel nasofaring dan paru-paru^[26], Seperti yang telah diketahui, perlekatan Spn pada epitel nasofaring merupakan tahap pertama yang menentukan jumlah Spn bawaan (*carriage*) dan bersifat potensial untuk patogenesis. Sedangkan perlekatan Spn pada epitel paru-paru merupakan tahap wajib yang harus terjadi agar dapat menyebabkan pneumonia.^[22] Pada percobaan dengan model tikus, kedua protein ini mampu menginduksi dihasilkannya antibodi dan sel T memori (CD4) sebagai perlawanan terhadap kolonisasi dari tahapan infeksi Spn.^[27] Lebih lanjut, telah diketahui bahwa seluruh keluarga protein Pht, termasuk PhtD dan PhtE mampu menginduksi dihasilkannya antibodi yang bersifat *cross-reactive* pada kadar tertentu.^[24]

Pneumolysin (Ply) merupakan toksin dengan berat 53 kDa yang menjadi faktor virulensi dari Spn dan secara klinis mampu diekspresikan oleh seluruh *serotype* yang sesuai.^[29] Turunan dari Ply yang telah mengalami detoksifikasi (*detoxified pneumolysin derivative: PlyD*) merupakan komponen utama dari PPrV yang marak dikembangkan sekarang. Ply dapat didetoksifikasi secara kimia^[30] maupun melalui substitusi genetik.^[31] Pada konsentrasi *sublytic*, diketahui Ply mampu mengaktifasi sistem imun bawaan (*innate immunity*), termasuk *Toll-like Receptor-4* (TLR-4) dan *Nod-like Receptor Purine domain containing-3* (NLRP-3) *inflammasome* pada tikus.^[32-34]

Pneumococcal choline-binding protein-A (PcpA) merupakan antigen

protein yang umum ditemukan pada Spn. Pada model tikus, telah ditemukan peran utama dari PcpA pada sistem pertahanan di paru-paru, dengan keterlibatan yang sangat minim pada kolonisasi di nasofaring. Lebih lanjut, diketahui bahwa kadar mangan (Mn) yang tinggi pada lingkungan nasofaring dapat bersifat sebagai penghambat dari ekspresi PcpA.^[35]

LytB merupakan salah satu jenis enzim *hydrolase* pada dinding sel (*cell wall hydrolase*) Spn yang terletak berdekatan dengan bagian akhir polar (*polar end*) dari sel. Enzim ini memiliki aktivitas dari *N-acetylglucosaminidase* memainkan peran yang penting pada proses pembelahan sel bersaudara (*daughter cell separation*).^[36,37] Dari sudut pandang patogenesis, LytB berperan dalam pembentukan biofilm, perlekatan Spn ke sel epitel manusia, dan berkontribusi terhadap sepsis dan pneumonia dengan cara meningkatkan kemampuan dari LytC untuk menghindari dari fagositosis dan imunitas yang diperantarai oleh komplemen.^[38-40] LytB dapat dijadikan sebagai target yang menjanjikan dalam pengembangan vaksin pneumokokus secara universal karena pada percobaan dengan model tikus, diketahui bahwa antiserum anti-LytB secara signifikan mampu melindungi tikus dari kematiannya pada beberapa rantai Spn yang berbeda.^[41]

Setelah sukses diujikan pada model tikus di tahap preklinis, Pichichero et al memutuskan untuk menginvestigasi lebih lanjut kelima jenis protein tersebut dengan mengujikannya terhadap balita usia 6-36 bulan dengan lama studi mencapai 10 tahun.^[24] Berdasarkan penelitiannya yang dilakukan pada Juni 2006 hingga Desember 2009, diketahui bahwa kolonisasi Spn pada nasofaring merupakan tahapan imunisasi untuk PhtD, PhtE, PcpA, Ply, dan sedikit untuk LytB. Di waktu yang bersamaan, Pichichero et al juga menemukan adanya peningkatan serum antibodi spesifik IgG terhadap terhadap kelima jenis protein itu seiring dengan meningkatnya umur balita dari usia



6 hingga 30 bulan, dengan urutan konsentrasi IgG tertinggi diraih oleh PcpA dan disusul oleh PhtE, PhtD, Ply dan terakhir LytB.^[19]

Lebih lanjut, masih dengan kelima jenis protein yang sama, Pichichero et al. melalui penelitiannya kembali menemukan bahwa kelima jenis protein yang diujikan ternyata mampu menstimulasi pembentukan sel T memori (CD4) dan sel B yang spesifik terhadap kelima jenis protein tersebut, dengan peringkat potensi protein yang sama dengan penelitian yang sebelumnya, yaitu PcpA>PhtD =PhtE>Ply>Lytb.^[42]

Terakhir, melalui penelitiannya yang berhasil dipublikasi pada tahun 2015, Pichichero et al berujung pada kesimpulannya bahwa PhtD, PcpA, dan PlyD1 pada umumnya memiliki sifat imunogenik yang serupa, dan oleh karena itu, cocok untuk dikombinasikan ke dalam suatu vaksin berbasis protein berbentuk *trivalent*.^[43]

Pneumococcal Protein Vaccine (Pprv) Model Trivalent (PhtD, PcpA, dan PlyD1) dengan Adjuvan Aluminium

Berdasarkan dari hasil penelitian Pichichero et al terkait dengan teorinya yang menyatakan bahwa kombinasi antara protein PhtD, PcpA, dan PlyD1 cocok untuk dikembangkan menjadi vaksin berbasis protein berwujud *trivalent*^[43], maka Brooks et al pada tahun yang sama berhasil membuktikan kebenaran teori tersebut melalui penelitiannya yang menguji efektivitas *Pneumococcal protein vaccine* (PPrV) berwujud *trivalent* dengan komposisi antigen protein PhtD, PcpA, dan PlyD1 terhadap dua kelompok usia, yaitu batita (*toddlers*) berusia 12-13 bulan, dan bayi (*infants*) yang berumur 42-49 hari. Dalam percobaannya, Brooks et al menerapkan tiga jenis perlakuan, yakni kombinasi PPrV dengan adjuvan, PPrV tanpa adjuvan, dan terakhir digunakan plasebo atau obat kosong berisi *Tris-buffered saline* sebagai kontrol negatif.^[44]

Adjuvan merupakan substansi tambahan yang dimasukkan ke dalam vaksin dalam rangka meningkatkan kemampuan vaksin tersebut untuk menginduksi respon imun tubuh^[45]. Dalam penelitiannya, Brooks et al menggunakan adjuvan jenis aluminium (*phosphate-treated aluminium hydroxide*) sebanyak 0.28 mg. Aluminium tergolong sebagai jenis adjuvan yang berfungsi untuk meningkatkan efisiensi dari pengantaran vaksin (*carriers of vaccine materials*) menuju ke lokasi target^[46]. Aluminium sendiri dipilih sebagai adjuvan dalam percobaan ini karena telah terbukti dapat menginduksi dihasilkannya antibodi dalam jangka waktu yang lebih cepat dengan titer antibodi yang lebih tinggi, proteksi imunitas yang ditawarkan lebih lama, juga telah teruji keamanannya.^[47]

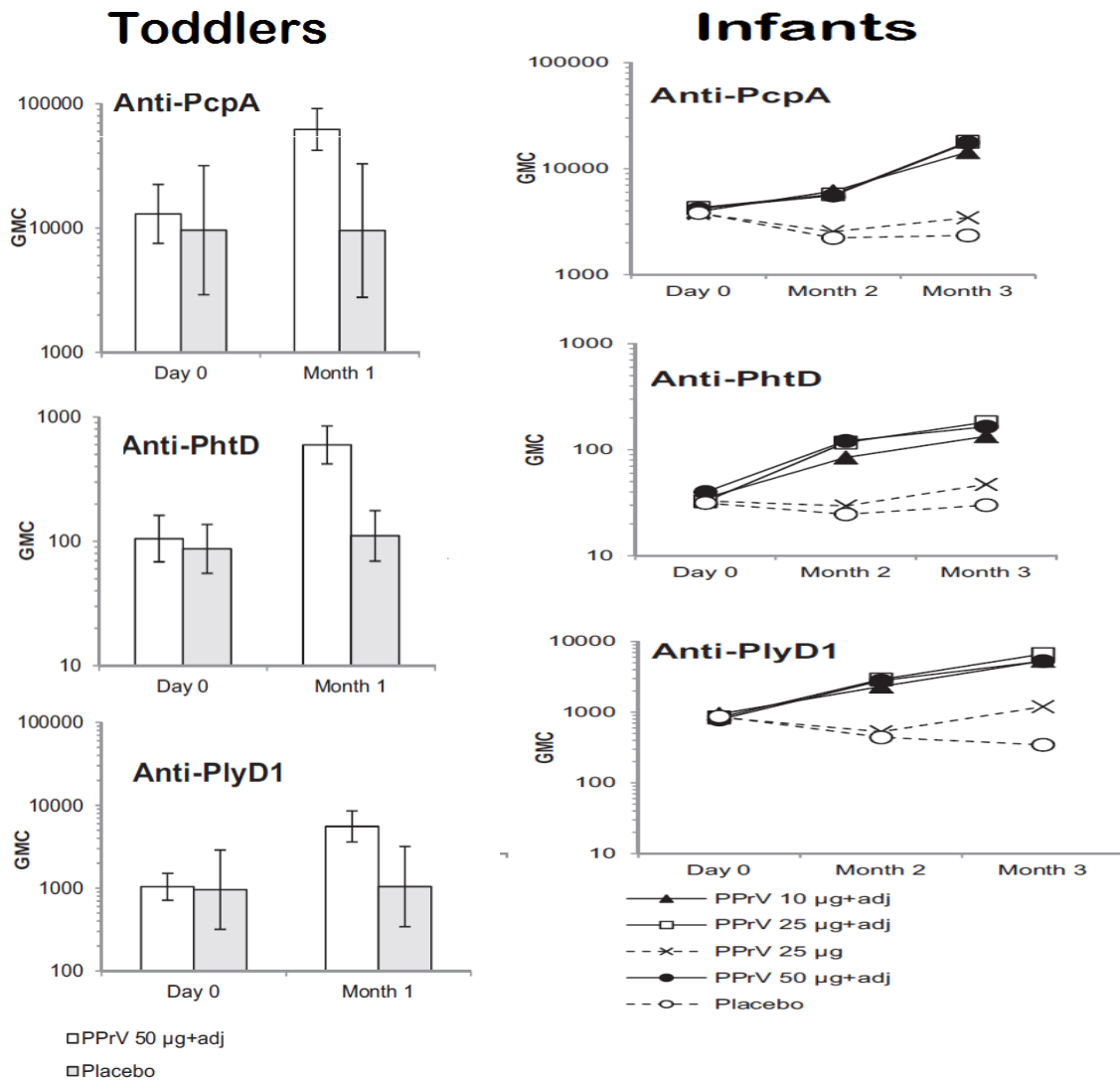
Pada percobaan PPrV dengan adjuvan aluminium 0,28 mg, pada kelompok bayi, digunakan tiga jenis konsentrasi yang berbeda untuk tiap antigen protein PhtD, PcpA, dan PlyD1, yaitu sebanyak 10, 25, serta 50 µg dalam 0.5 ml *Tris-buffered saline* (10 mM Tris, pH 7.4, 150 mM NaCl). Sedangkan untuk PPrV tanpa adjuvan, digunakan hanya satu jenis konsentrasi, yaitu 25 µg untuk tiap antigen protein tersebut. Pada kelompok batita, PPrV dengan adjuvan aluminium 0,28 mg yang digunakan hanya memiliki satu jenis konsentrasi yaitu 50 µg pada ketiga antigen protein dengan perlakuan yang sama. Baik kelompok bayi maupun batita, keduanya menggunakan plasebo sebagai kontrol *negative*.^[44]

Segala jenis perlakuan tersebut kemudian dikemas dalam sediaan vial satu kali pakai, yang siap diinjeksikan kepada batita sebanyak satu kali, dan pada bayi diinjeksikan sebanyak tiga kali dengan interval waktu satu bulan yakni pada minggu ke-6, 10, dan 14 dari usia kelahiran bayi tersebut. Adapun tingkat imunogenisitas vaksinnnya diukur dengan menggunakan satuan *geometric mean antibody concentrations* (GMCs) yang menyatakan jumlah geometri rata-rata dari



konsentrasi antibodi yang dihasilkan oleh tubuh akibat vaksinasi yang diberikan. Pada balita (*toddlers*) GMCs diukur dari pre-vaksinasi (*day 0*) dan 1 bulan setelah divaksinasi. Pada bayi (*infants*) diukur dari

pre-vaksinasi (*day 0*) dan 1 bulan setelah divaksinasi pada bulan ke-2 dan 3. Untuk hasil GMCs dari tiap antigen protein PhtD, PcpA, dan PlyD1 dapat dilihat pada gambar 1.^[44]



Gambar 1. Konsentrasi Serum dari Antibodi Terhadap PcpA (Atas), PhtD (Tengah), dan PlyD1 (Bawah) yang Diukur dengan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

Berdasarkan gambar 1, terlihat bahwa vaksinasi PPrV baik dengan ataupun tanpa adjuvan aluminium mampu meningkatkan GMCs untuk ketiga antigen protein pada kedua kelompok usia bayi maupun balita. Lebih jelasnya pada kelompok bayi, pada pengukuran GMC saat satu bulan setelah vaksinasi ketiga (*month 3*), sekitar 78-91%

bayi untuk grup 25 µg PPrV dengan adjuvan mengalami peningkatan konsentrasi antibodi sebesar ≥ 2 kali lipat atau yang disebut *fold increase* dan sekitar 56-72% konsentrasinya meningkat hingga ≥ 4 kali lipat. Hasil yang serupa juga ditemukan pada PPrV dengan adjuvan pada konsentrasi 50 µg.



Sebaliknya pada grup 25µg PPrV tanpa adjuvan, hanya 32-39% dari bayi yang peningkatan konsentrasi antibodinya sebesar ≥ 2 kali lipat dan hanya 16-23% dari bayi yang antibodinya meningkat hingga ≥ 4 kali lipat. Dengan kata lain, pada bayi, konsentrasi antibodi (GMCs) akibat vaksinasi PPrV dengan adjuvan lebih tinggi dibandingkan dengan vaksinasi PPrV tanpa adjuvan. Walaupun demikian, vaksinasi PPrV tanpa adjuvan nyatanya dinilai masih lebih baik dibandingkan dengan grup plasebo yang hanya memiliki sekitar 6-28% bayi dengan peningkatan konsentrasi antibodi sebesar ≥ 2 kali lipat dan hanya 2-15% bayi yang memiliki konsentrasi antibodi mencapai ≥ 4 kali lipat. Dari gambar 1 juga dapat diketahui bahwa konsentrasi antibodi

(GMCs) pada vaksinasi PPrV formula 25 dan 50 µg dengan adjuvan sedikit lebih tinggi dibandingkan formula 10 µg dengan vaksin yang sama.^[44]

Tidak jauh berbeda dengan kelompok bayi, pada batita, pada vaksinasi PPrV dengan konsentrasi 50 µg ditambah adjuvan aluminium, sekitar 89-100% dari batita tersebut mengalami peningkatan GMCs sebesar ≥ 2 kali lipat dan 63-74% batita yang GMCs-nya meningkat ≥ 4 kali lipat. Sedangkan dari grup plasebo, hanya sekitar 0-10% batita yang GMCs-nya meningkat hingga ≥ 2 atau ≥ 4 kali lipat, hasil yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan vaksinasi PPrV 50 µg dengan tambahan adjuvan. Data yang lebih lengkap dapat dilihat pada tabel 1.^[44]

Fold increase vs. day 0	Antibody	Toddlers		Infants				
		PPrV 50 µg+adj (N=19)	Placebo (N=10)	PPrV 10 µg+adj (N=28)	PPrV 25 µg+adj (N=32)	PPrV 25 µg (N=31)	PPrV 50 µg+adj (N=33)	Placebo (N=47)
≥ 2 -Fold	Anti-PcpA	17(89.5)	0(0.0)	21(75.0)	25(78.1)	10(32.3)	25(75.8)	13(27.7)
	Anti-PhtD	19(100.0)	1(10.0)	23(82.1)	29(90.6)	11(35.5)	25(75.8)	11(23.4)
	Anti-PlyD1	19(100.0)	1(10.0)	22(78.6)	29(90.6)	12(38.7)	27(81.8)	3(6.4)
≥ 4 -Fold	Anti-PcpA	12(63.2)	0(0.0)	12(42.9)	18(56.3)	5(16.1)	15(45.5)	3(6.4)
	Anti-PhtD	14(73.7)	0(0.0)	16(57.1)	23(71.9)	6(19.4)	21(63.6)	7(14.9)
	Anti-PlyD1	14(73.7)	0(0.0)	19(67.9)	23(71.9)	7(22.6)	23(69.7)	1(2.1)

Tabel 1. Laju *Sero response* satu bulan setelah divaksin (*toddlers*), dan satu bulan setelah vaksinasi bulan ketiga (*infants*).^[1] N = Jumlah Populasi yang Diberi Vaksin.

Pada penelitian ini, semua konsentrasi PPrV (10, 25, 50 µg) yang diberikan saat vaksinasi dapat ditoleransi dengan baik oleh tubuh bayi maupun batita, dan tidak ada masalah kesehatan juga reaksi hipersensitivitas yang didapat. Efek samping akibat pemberian vaksin seperti demam, muntah, hingga iritasi yang ditemukan hanya bersifat ringan hingga

sedang dan dapat sembuh dalam kurun waktu 1-3 hari setelah vaksinasi. Efek samping yang timbul tidak ada kaitannya dengan penggunaan adjuvan^[44]. Secara umum, profil keselamatan PPrV model *trivalent* ini mirip dengan vaksin *monovalent* dan *bivalent* yang mengandung jenis antigen yang sama.^[48-50]

Pada kedua kelompok usia bayi dan batita, vaksinasi PPrV dengan model



trivalent akan meningkatkan konsentrasi dari antibodi tubuh terhadap ketiga antigen protein yang terkandung di dalam vaksin yakni PhtD, PcpA, dan PlyD1. Khusus untuk bayi, agar dapat diperoleh respon antibodi yang maksimal, dibutuhkan adanya penambahan adjuvandan tiga kali tahapan vaksinasi. Keberadaan adjuvan pada PPrV akan mampu menghasilkan konsentrasi antibodi yang lebih tinggi dikarenakan oleh fungsinya dalam meningkatkan efisiensi pengantaran vaksin menuju ke target lokasi. Dengan kemampuannya dalam menginduksi respon imun, PPrV diyakini mampu memberikan proteksi terhadap *serotype* Spn yang lebih luas, juga dapat menghindari masalah perubahan *serotype* yang seringkali terjadi pada penggunaan vaksin model PCV.^[44]

Administrasi PPrV secara Intranasal

Membran mukosa merupakan tempat yang menjanjikan dalam administrasi vaksin melawan penyakit menular karena merupakan tempat masuk yang utama dari banyak patogen. Vaksinasi pada membran mukosa dinilai lebih efektif dibandingkan dengan pemberian vaksin secara parenteral dalam upaya netralisasi untuk menghambat patogen sebelum menimbulkan efek sistemik.^[51] Hal itu dikarenakan vaksinasi melalui mukosa mampu menginduksi respon imun *humoral* yang spesifik terhadap antigen tertentu, juga respon imun yang dimediasi sel, baik itu secara sistemik maupun pada mukosa itu sendiri.^[52] Selain itu, vaksinasi melalui mukosa juga dapat menstimulasi memori jangka panjang pada sel B dan sel T secara efisien.^[53] Keuntungan lain yang dapat diperoleh dengan metode vaksinasi melalui mukosa antara lain terbebas dari penggunaan jarum untuk injeksi yang tidak hanya menimbulkan rasa sakit tapi juga butuh tenaga profesional untuk melakukannya, memungkinkan untuk vaksinasi massal^[54], dan mampu mengurangi efek samping yang timbul

dibandingkan dengan pemberian vaksin secara parenteral.^[55]

Saat ini ada berbagai macam metode administrasi vaksin melalui mukosa yang digunakan, namun metode administrasi secara intranasal diyakini sebagai metode yang paling tepat untuk diterapkan pada vaksinasi dalam mencegah pneumonia.^[52] Rigter et al (2013) telah membuktikan hal tersebut melalui penelitiannya terhadap vaksin *respiratory syncytial virus (RSV)*, selaku virus utama penyebab pneumonia, dengan metode fusi protein rekombinan yang diadministrasikan secara intranasal pada model tikus.^[56] Hal yang serupa juga pernah dilakukan oleh Khan et al yang menerapkan imunisasi secara intranasal dengan menggunakan vaksin berbasis protein PhtD.^[27] Terakhir, Xu et al berhasil menerapkan administrasi secara intranasal pada uji vaksin PPrV model *trivalent* (PhtD, PcpA, dan PlyD1) dengan adjuvan aluminium untuk melawan beberapa dosis Spn yang diberikan, walaupun masih menggunakan model tikus.^[57]

Vaksinasi secara intranasal bekerja dengan cara menginduksi respon imun yang ada pada traktus respiratorius, gaster serta pada traktus genital.^[52] Vaksinasi pada mukosa nasal dapat menstimulasi imunitas mukosa saluran napas melalui interaksinya dengan *nasopharyngeal-associated lymphoid tissue* (NALT) yang terdiri atas *waldeyer Ring's* dan folikel limfoid subepitelial.^[58] NALT kaya akan sel-sel imunokompeten yaitu sel B dan sel T serta sel fagositik APC seperti makrofag dan sel dendritik.^[59] Sebagai tambahan, epitel pada lapisan atas mukosa membentuk lapisan yang spesial. Sel ini mempunyai *microfolds* (lipatan mikro) pada permukannya dan dikenal sebagai *Microfolds cells* (Sel M). Sel M memainkan peran krusial pada fase awal induksi respon imun mukosa. Oleh karena itu, pada vaksin melalui mukosa, sel M menjadi target untuk meraih imunitas mukosa tersebut.^[60]



KESIMPULAN

Pada bayi maupun balita, vaksinasi dengan PPrV model *trivalent* mampu meningkatkan konsentrasi antibodi sebanyak dua hingga empat kali dari konsentrasi awal. Untuk respon antibodi yang maksimal, pada bayi diperlukan vaksinasi sebanyak tiga kali dengan penambahan adjuvan aluminium dan formula antigen protein sebesar 25 µg atau 50 µg. Sedangkan untuk balita, peningkatan antibodi yang signifikan dapat diperoleh melalui vaksinasi dosis tunggal dengan formula 50 µg dengan adjuvan yang sama. Untuk menambah efektivitas kerja PPrV, diperlukan metode administrasi secara intranasal agar mampu menginduksi imunitas mukosa dengan respon sel memori yang lebih lama, juga meminimalisir efek samping dan rasa sakit yang dirasakan oleh balita saat vaksinasi dilakukan.

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai vaksinasi PPrV model *trivalent* (PhtD, PcpA, dan PlyD1) dengan adjuvan aluminium yang diadministrasikan secara intranasal pada balita.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Pneumonia fact sheet. World Health Organization. Updated September 2016.
- [2] NHLBI Health Topics. Bethesda (MD) : National Heart, Lung, and Blood Institute , NIH (US) ; 2013. Pneumonia. (updated 2014 June 11)
- [3] Profil kesehatan Indonesia tahun 2015. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. 2016.
- [4] Kayhty H, Nurkka A, Soininen A, Vakevainen M. The Immunological Basis for Immunization Series, module 12: Pneumococcal Vaccines (Ed.^(Eds) (Department of Immunization, Vaccines, and Biologicals, World Health Organization, Publications of the World Health Organization: 2009.
- [5] Ending Preventable Child Deaths from Pneumonia and Diarrhoea by 2025: The Integrated Global Action Plan for Pneumonia and Diarrhoea (GAPPD), WHO, Geneva 2013.
- [6] Pneumococcal Vaccination: What everyone Should Know. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Last update 22 November 2016
- [7] Khan MN, Pichichero ME. The host immune dynamics of pneumococcal colonization: implications for novel vaccine development. *Hum Vaccines Immunother.* 2014; 10(12):3688-99;
- [8] WHO Pneumococcal vaccines-WHO (World Health Organization) position paper - 2012 In: 6 April 2012, 87th year / 6 avril 2012, 87e année, No. 14, 2012, 87, 129-144, <http://www.who.int/wer>. WHO; (Ed.^(Eds) (Geneva, Switzerland: 2012)
- [9] van der Linden M, Reinert RR, Kern WV, Imohl M. Epidemiology of serotype 19A isolates from invasive pneumococcal disease in German children. *BMC Infect Dis.* 2013; 13:70;
- [10] Feldman C, Anderson R. Review Current and new generation pneumococcal vaccines. *J Infect.* 2011;69:309-25
- [11] Pichichero ME, Casey JR. Emergence of a multiresistant serotype 19A pneumococcal strain not included in the 7-valent conjugate vaccine as an otopathogen in children. *Jama.* 2007; 298(15):1772-8;
- [12] Kaplan SL, Barson WJ, Lin PL, Stovall SH, Bradley JS, Tan TQ, Hoffman JA, Givner LB, Mason EO Jr. Serotype 19A Is the most common serotype causing invasive



- pneumococcal infections in children. *Pediatrics*. 2010; 125(3):429-36;
- [13] Bosch AA, Biesbroek G, Trzcinski K, Sanders EA, Bogaert D. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *PLoS Pathog*. 2013; 9(1), e1003057
- [14] Pettigrew MM, Gent JF, Pyles RB, Miller AL, Nokso-Koivisto J, Chonmaitree T. Viral-bacterial interactions and risk of acute otitis media complicating upper respiratory tract infection. *J Clin Microbiol*. 2011. 49(11):3750-5
- [15] McCullers JA. Insights into the interaction between influenza virus and pneumococcus. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19(3):571-82
- [16] Wolf AI, Strauman MC, Mozdzanowska K, Williams KL, Osborne LC, Shen H, Liu Q, Garlick D, Artis D, Hensley SE, et al. Pneumolysin expression by streptococcus pneumoniae protects colonized mice from influenza virus-induced disease. *Virology*. 2014; 462–463:254-65
- [17] Lijek RS, Weiser JN. Co-infection subverts mucosal immunity in the upper respiratory tract. *Curr Opin Immunol*. 2012; 24(4):417-23
- [18] Mureithi MW, Finn A, Ota MO, Zhang Q, Davenport V, Mitchell TJ, Williams NA, Adegbola RA, Heyderman RS. T cell memory response to pneumococcal protein antigens in an area of high pneumococcal carriage and disease. *J Infect Dis*. 2009; 200(5):783-93
- [19] Pichichero ME, Kaur R, Casey JR, Xu Q, Almudevar A, Ochs M. Antibody response to Streptococcus pneumoniae proteins PhtD, LytB, PcpA, PhtE and Ply after nasopharyngeal colonization and acute otitis media in children. *Hum Vaccines Immunother*. 2012; 8(6):799-805
- [20] Wright AK, Bangert M, Gritzfeld JF, Ferreira DM, Jambo KC, Wright AD, Collins AM, Gordon SB. Experimental human pneumococcal carriage augments IL-17A-dependent T-cell defence of the lung. *PLoS Pathog*. 2013; 9(3), e1003274
- [21] Richards L, Ferreira DM, Miyaji EN, Andrew PW, Kadioglu A. The immunising effect of pneumococcal nasopharyngeal colonisation; protection against future colonisation and fatal invasive disease. 2010; 215(4):251-63
- [22] Bogaert D, De Groot R, Hermans PW. Streptococcus pneumoniae colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis*. 2004; 4(3):144-54
- [23] Lee H, Choi EH, Lee HJ. Efficacy and effectiveness of extended-valency pneumococcal conjugate vaccines. *Korean J Pediatr*. 2014; 57(2):55-66
- [24] Pichichero ME, Khan MN, Xu Q. Next generation protein based Streptococcus pneumoniae vaccines. *Hum Vaccin Immunother*. 2016; 12(1): 194–205
- [25] Rioux S, Neyt C, Di Paolo E, Turpin L, Charland N, Labbé S, Mortier MC, Mitchell TJ, Feron C, Martin D, et al. Transcriptional regulation, occurrence and putative role of the Pht family of Streptococcus pneumoniae. *Microbiology*. 2011; 157(Pt 2):336-48
- [26] Khan MN, Pichichero ME. Vaccine candidates PhtD and PhtE of Streptococcus pneumoniae are adhesins that elicit functional antibodies in humans. *Vaccine*. 2012; 30(18):2900-7
- [27] Khan MN, Pichichero ME. CD4 T cell memory and antibody responses directed against the pneumococcal histidine triad proteins PhtD and PhtE following nasopharyngeal colonization and immunization and their role in protection against pneumococcal colonization in



- mice. *Infection and immunity*. 2013;81(10):3781-92
- [28] Kaur R, Casey JR, Pichichero ME. Serum antibody response to five *Streptococcus pneumoniae* proteins during acute otitis media in otitis-prone and non-otitis-prone children. *Pediatr Infect Dis J*. 2011; 30(8):645-50
- [29] Marriott HM, Mitchell TJ, Dockrell DH. Pneumolysin: a double-edged sword during the host-pathogen interaction. *Curr Mol Med*. 2008; 8(6):497-509
- [30] Salha D, Szeto J, Myers L, Claus C, Sheung A, Tang M, Ljusic B, Hanwell D, Ogilvie K, Ming M, et al. Neutralizing antibodies elicited by a novel detoxified pneumolysin derivative, PlyD1, provide protection against both pneumococcal infection and lung injury. *Infect Immun*. 2012;80(6):2212-20
- [31] Leroux-Roels G, Maes C, De Boever F, Traskine M, Ruggenberg JU, Borys D. Safety, reactogenicity and immunogenicity of a novel pneumococcal protein-based vaccine in adults: a phase I/II randomized clinical study. *Vaccine*. 2014;32(50):6838-46
- [32] Khan MN, Coleman JR, Vernatter J, Varshney AK, Dufaud C, Pirofski LA. An Ahemolytic Pneumolysin of *Streptococcus Pneumoniae* Manipulates Human Innate and CD4+ T-Cell Responses and Reduces Resistance to Colonization in Mice in a Serotype-Independent Manner. *J Infect Dis*. 2014; 210(10):1658-69
- [33] Witznath M, Pache F, Lorenz D, Koppe U, Gutbier B, Tabeling C, Reppe K, Meixenberger K, Dorhoi A, Ma J, et al. The NLRP3 inflammasome is differentially activated by pneumolysin variants and contributes to host defense in pneumococcal pneumonia. *J Immunol*. 2011; 187(1):434-40
- [34] Malley R, Henneke P, Morse SC, Cieslewicz MJ, Lipsitch M, Thompson CM, Kurt-Jones E, Paton JC, Wessels MR, Golenbock DT, et al. Recognition of pneumolysin by Toll-like receptor 4 confers resistance to pneumococcal infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100(4):1966-71
- [35] Glover DT, Hollingshead SK, Briles DE. *Streptococcus pneumoniae* surface protein PcpA elicits protection against lung infection and fatal sepsis. *Infect Immun*. 2008; 76(6):2767-76
- [36] DeLasRivas B, García JL, López R, García P. Purification and polar localization of pneumococcal LytB, a putative endo-b-N-acetylglucosaminidase: the chain dispersing murein hydrolase. *J Bacteriol*. 2002;184:4988–5000
- [37] García P, González MP, García E, López R, García JL. LytB, a novel pneumococcal murein hydrolase essential for cell separation. *Mol Microbiol*. 1999;31:1275–81.
- [38] Ramos-Sevillano E, Moscoso M, García P, García E, Yuste J. Nasopharyngeal colonization and invasive disease are enhanced by the cell wall hydrolases LytB and LytC of *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS One*. 2011;6:e23626.
- [39] Moscoso M, García E, López R. Biofilm formation by *Streptococcus pneumoniae*: role of choline, extracellular DNA, and capsular polysaccharide in microbial accretion. *J Bacteriol*. 2006;188:7785–95.
- [40] Bai XH, Chen HJ, Jiang YL, Wen Z, Huang Y, Cheng W, et al. Structure of pneumococcal peptidoglycan hydrolase LytB reveals insights into the bacterial cell wall remodeling and pathogenesis. *J Biol Chem*. 2014;289:23403–16
- [41] Witzmann TM, Heinrichs JH, Adamou JE, Erwin AL, Kunsch C, Choi GH, et al. Use of a whole genome approach to identify vaccine



- molecules affording protection against *Streptococcus pneumoniae* infection. *Infect Immun.* 2001;69:1593–8.
- [42] Sharma SK, Roumanes D, Almudevar A, Mosmann TR, Pichichero ME. CD4⁺ T-cell responses among adults and young children in response to *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* vaccine candidate protein antigens. *Vaccine.* 2013; 31(30):3090–7
- [43] Ren D, Almudevar AL, Pichichero ME. Synchrony in serum antibody response to conserved proteins of *Streptococcus pneumoniae* in young children. *Hum Vaccines Immunotherapeutics.* 2015; 11(2):489–97
- [44] Brooks WA, et al. Safety and immunogenicity of a trivalent recombinant PcpA, PhtD, and PlyD1 pneumococcal protein vaccine in adults, toddlers, and infants: A phase I randomized controlled study. *Vaccine.* 2015; 33(36):4610–7
- [45] Gutjahr A, Tiraby G, Perouzel E, Verrier B, Paul S. Triggering intracellular receptors for vaccine adjuvantion. *Trends Immunol.* 2016; 37:573–587
- [46] Rappuoli R, Mandl CW, Black S, De Gregorio E. Vaccines for twenty-first century society. *Nat Rev Immunol.* 2011;11:865–872.
- [47] Lindblad, Erik B. Aluminium compounds for use in vaccines. *Immunology and Cell Biology.* 2004;82 :497–505
- [48] Bologna M, Kamtchoua T, Hopfer R, Sheng X, Hicks B, Bixler G, et al. Safety and immunogenicity of pneumococcal protein vaccine candidates: monovalent choline-binding protein A (PcpA) vaccine and bivalent PcpA-pneumococcal histidine triad protein D vaccine. *Vaccine.* 2012;30:7461–8.
- [49] Kamtchoua T, Bologna M, Hopfer R, Neveu D, Hu B, Sheng X, et al. Safety and immunogenicity of the pneumococcal pneumolysin derivative PlyD1 in a single-antigen protein vaccine candidate in adults. *Vaccine.* 2013; 31: 327–33.
- [50] Seiberling M, Bologna M, Brookes R, Ochs M, Go K, Neveu D, et al. Safety and immunogenicity of a pneumococcal histidine triad protein D vaccine candidate in adults. *Vaccine.* 2012; 30:7455–60.
- [51] Yingying X, Yuen PW, Jenny KWL. Intranasal DNA Vaccine for Protection against Respiratory Infectious Diseases: The Delivery Perspectives. *Pharmaceutics.* 2014.6, 378–41
- [52] Lycke N. Recent progress in mucosal vaccine development: potential and limitations. *Nat Rev Immunol.* 2012.12, 592–605.
- [53] Sallusto F, Lanzavecchia A, Araki K, Ahmed R. From vaccines to memory and back. *Immunity.* 2010;33:451–63.
- [54] Hazebrouck S, Przybylski-Nicaise L, Ah-Leung S, et al. Influence of the route of administration on immunomodulatory properties of bovine beta-lactoglobulin-producing *Lactobacillus casei*. *Vaccine.* 2009. 27(42):5800–5
- [55] Tang DC, Nguyen HH. The Yin-Yang arms of vaccines: disease-fighting power versus tissue-destructive inflammation. *Expert Rev Vaccines.* 2014. 13(3):417–27
- [56] Rigter A, Widjaja IV, ersantvoort H, Coenjaerts FE, van Roosmalen M, Leenhouts K, Rottier PJ, Haijema BJ, de Haan CA. A protective and safe intranasal RSV vaccine based on a recombinant prefusion-like form of the F protein bound to bacterium-like particles. *PLoS One.* 2013. 8, e71072
- [57] Xu Q, Verhoeven D, Pichichero ME. Vaccination with a *Streptococcus pneumoniae* trivalent recombinant PcpA, PhtD and PlyD1 protein vaccine candidate protects against



- lethal pneumonia in an infant murine model. *Vaccine*. 2014;32:3205–10.
- [58] Csaba, N, Garcia-Fuentes M, Alonso MJ. Nanoparticles for nasal vaccination. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2009.61, 140–157.
- [59] Bienenstock, J.; McDermott, M.R. Bronchus- and nasal-associated lymphoid tissues. *Immunol. Rev.* 2005. 206, 22–31.
- [60] Woodrow KA, Bennett KM, Lo DD. Mucosal vaccine design and delivery. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2012. 14, 17–46.