

Human Monoclonal Antibody (HMAb) Solusi Pengganti Antitoksin Difteri

Rasmi Zakiah Oktarlina¹, Adela Putri Agata²

¹Bagian Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Mahasiswa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Kejadian luar biasa difteri masih menjadi masalah di Indonesia sejak tahun 2011. Kejadian terbesar terjadi pada tahun 2012, sebesar 955 kasus. Hal ini menyebabkan Indonesia menjadi negara kedua dengan prevalensi kasus difteri terbanyak setelah India. Hingga pada akhir tahun 2017, ditemukan 591 kasus difteri di Indonesia. Hal ini berbanding lurus dengan meningkatnya angka kejadian *drop out* imunisasi yang berhubungan dengan semakin banyaknya kelompok anti vaksin. Terjadinya peningkatan kasus difteri ini menyebabkan diperlukannya pengobatan yang optimal terhadap kasus difteri. Pengobatan difteri saat ini adalah dengan Difteri Antitoksin (DAT) yang dikombinasikan dengan antibiotik yang adekuat. Namun dalam penggunaannya DAT yang berasal dari kuda ini memiliki efek samping berupa risiko alergi, reaksi hipersensitivitas tipe lambat, *serum sickness*, bahkan syok anafilaktik. Saat ini hanya India dan Brazil memproduksi DAT. Sementara untuk mengimpor DAT harus dengan seizin *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC). Penggunaan DAT dibatasi dan harus dilakukan pemeriksaan sensitivitas terlebih dahulu kepada pasien. Sedangkan penatalaksanaan difteri yang terlambat akan menyebabkan terjadinya peningkatan risiko komplikasi. *Human Monoclonal Antibody* (HMAb) bisa menjadi pilihan dalam menggantikan DAT yang dipakai selama ini. HMAb mampu menghambat terjadinya ikatan antara toksin difteri dan fragmen B dengan *Heparin-binding Epidermal Growth Factor* (HB-EGF). HMAb bisa menjadi pilihan yang sangat baik untuk menggantikan penggunaan DAT.

Kata Kunci : difteri, dat, *human monoclonal antibody*

Human Monoclonal Antibody (HMAb) Solution to Replace Diphtheria Antitoxin

Abstract

The outbreak of diphtheria is still a problem in Indonesia since 2011. The highest outbreak prevalence occurred in 2012, where there were 955 cases. This caused Indonesia to become the second country with the highest prevalence of diphtheria cases after India. Until the end of 2017, 591 cases of diphtheria were found in Indonesia. This is directly proportional to the increase in the number of immunization dropouts associated with the increasing number of anti-vaccine groups. The increase in cases of diphtheria causes the need for optimal treatment of diphtheria cases. Current diphtheria treatment is with Diphtheria Antitoxin (DAT) combined with adequate antibiotics. But in its use DAT originating from horses has side effects in the form of risk of allergies, slow type hypersensitivity reactions, serum sickness, even anaphylactic shock. At this time only India and Brazil produces DAT. Meanwhile, to import DAT should be through *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) confirmation. The use of DAT is limited and sensitivity checks must be carried out in advance to the patient. While the management of late diphtheria will cause an increased risk of complications. *Human Monoclonal Antibody* (HMAb) can be an option to replace the DAT used so far. HMAb can inhibit the bonding between diphtheria toxin and fragment B with *Heparin-binding Epidermal Growth Factor* (HB-EGF). HMAb can be a very good choice to replace the use of DAT.

Keywords : diphtheria, dat, *human monoclonal antibody*

Korespondensi : Adela Putri Agata, alamat Jln. Sultan Badarudin gg.Kenanga No. 21 Gunung Agung, Langkapura, Bandar Lampung, HP 08976083877, e-mail adelaputri21@gmail.com

Pendahuluan

Difteri merupakan penyakit yang dapat dicegah dengan imunisasi. Imunisasi difteri bersama dengan pertusis dan tetanus, termasuk ke dalam imunisasi dasar. Imunisasi difteri, pertusis, tetanus (DPT) diberikan pada usia 2, 3, dan 4 bulan. *Booster* imunisasi DPT akan diulang pada usia 18 bulan, 5 tahun, 10-12 tahun. *Booster* DPT 7 dapat diberikan setiap 10 tahun.¹

Namun kejadian luar biasa difteri masih menjadi masalah di Indonesia sejak tahun 2011. Kejadian terbesar terjadi pada tahun 2012, dimana terdapat 955 kasus. Hal ini menyebabkan Indonesia menjadi negara kedua dengan prevalensi kasus difteri terbanyak setelah India.² Hingga akhir dari minggu ke-48 pada tahun 2017, ditemukan 591 kasus di Indonesia. Kasus tersebut dilaporkan dari 95 daerah di 20 provinsi. Banten, Jawa Barat, Jawa

Timur, Bangka Belitung, Jambi, dan Lampung dilaporkan sebagai provinsi yang memiliki angka kasus difteri terbanyak.³ Hal ini berbanding lurus dengan meningkatnya angka kejadian *drop out* imunisasi.¹

Drop out imunisasi merupakan kejadian dimana anak tidak mendapatkan imunisasi dasar dengan lengkap. Target *drop out* imunisasi yaitu dibawah 5%. Pada tahun 2008 hingga tahun 2016 terjadi penurunan angka *drop out* imunisasi dari 5.3% menjadi 2.4%. Namun pada tahun 2017 terjadi peningkatan menjadi 4.1%. Peningkatan angka *drop out* imunisasi pada semua jenis antigen berhubungan dengan semakin banyaknya kelompok anti vaksin. Terjadinya peningkatan kasus difteri ini menyebabkan diperlukannya pengobatan yang optimal terhadap kasus difteri.¹

Penatalaksanaan difteri saat ini adalah dengan memberikan Difteri Antitoksin (DAT) dan dikombinasikan dengan antibiotik.⁴ DAT yang dipakai selama ini merupakan serum yang berasal dari kuda. Penggunaan DAT dapat menyebabkan risiko alergi, reaksi hipersensitivitas tipe lambat atau yang disebut *serum sickness*, dan bahkan syok anafilaksis.^{4,5,6,7} Hal ini menyebabkan pentingnya mencari antitoksin lain yang aman. *Human Monoclonal Antibody* (HMAb) dapat menjadi pilihan dalam menggantikan DAT yang berasal dari kuda.^{4,6,7}

Isi

Difteri merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Corynebacterium diphtheriae*. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif fakultatif anaerob. *Corynebacterium diphtheriae* dapat dibedakan menjadi yang dapat menghasilkan toksin dan tidak menghasilkan toksin. Sifat toksigenitas ini dapat berubah oleh pengaruh dari bakteriofaga. *Corynebacterium diphtheriae* yang tidak menghasilkan toksin dapat menjadi bakteri yang menghasilkan toksin bila diinsersi oleh bakteriofaga.^{8,9}

Bakteri akan berikatan dengan mukosa yang diperantarai oleh pili. Toksin yang dihasilkan oleh bakteri ini akan menghambat dari sintesis protein sel. Bakteri dan toksin yang dihasilkan ini akan menyebabkan reaksi inflamasi. Terjadi akumulasi fibrin yang difiltrasi

oleh leukosit. Sel akan mengalami destruksi sehingga membentuk pseudomembran. Pseudomembran putih keabuan ini dapat menyebabkan terjadinya penyumbatan. Hal ini terjadi karena terjadi peradangan tonsil. Membran ini akan mudah berdarah jika dilakukan pengangkatan.^{8,9,10}

Penatalaksanaan difteri yang terlambat akan menyebabkan terjadinya peningkatan risiko komplikasi berupa miokarditis dan neuritis.⁸ Saat ini penatalaksanaan yang efektif untuk dilakukan adalah dengan memberikan antitoksin dikombinasikan dengan antibiotik yang adekuat.¹⁰ Antibiotik pilihan adalah Eritromisin atau Penisilin yang diberikan selama 14 hari.¹¹ Di Indonesia, pengobatan difteri menggunakan antibiotik dan antitoksin difteri berupa Anti Difteri Serum (ADS) dengan dosis sesuai tingkat keparahan penyakitnya. Anti difteri serum didapatkan dengan cara mengimpor antitoksin yang hanya diproduksi di Brazil dan India dengan konfirmasi dan izin dari Centers for Disease Control and Prevention (CDC).¹² Antitoksin harus diberikan segera setelah pasien didiagnosis difteri. Pemberian antitoksin pada hari pertama akan mengurangi risiko kematian hingga 1% namun hasilnya akan mencapai 30% risiko kematian bila pemberian antitoksin ditunda hingga hari ke enam.⁸

Beberapa negara telah menghentikan penyediaan DAT sejak diperkenalkan secara massal vaksin pada tahun 1940. Pada november 2008, terdapat kasus difteri di Perancis, dimana pada saat itu produksi DAT sudah dihentikan sejak tahun 2002, dan membutuhkan empat hari untuk dilakukan pengiriman DAT dari Brazil. Hal ini harus menjadi sebuah perhatian penting tentang penyediaan DAT.¹³

Difteri Antitoksin (DAT) dari serum kuda pertama kali digunakan pada tahun 1890an di Amerika Serikat.¹⁰ Pada tahun 1997, DAT hanya disediakan oleh CDC. Penggunaan DAT kemudian dibatasi dan harus dilakukan pemeriksaan sensitivitas terlebih dahulu kepada pasien.¹⁰ Pemeriksaan sensitivitas ini dilakukan di mata dan kulit. Pada kulit, disuntikan secara intrakutan 0.1 ml DAT dalam larutan fisiologis 1:1000. Hasil positif bila muncul indurasi >10 mm dalam 20 menit. Pada mata, DAT dalam

larutan fisiologis 1:10 diteteskan 1 tetes pada mata. Hasil positif bila konjungtiva bulbi hiperemis dan lakrimasi dalam 20 menit.⁸

Pasien yang mendapatkan hasil positif pada uji sensitivitas dapat diberikan DAT dengan cara desensitisasi. Pasien dengan hasil negatif dapat diberikan DAT intravena atau intramuskular.^{8,14} Pada kasus berat, DAT dapat diberikan secara Intravena. DAT dicampur dengan normal saline 250-500 ml dan diberikan secara perlahan 2-4 jam. Selama pemberian perlu dilakukan monitoring kemungkinan risiko syok anafilaktik. Pada kasus ringan-sedang, pemberian DAT dapat diberikan melalui intramuskular. Sebelum diinjeksi, DAT harus berada pada suhu 32-34°C. Suhu diatas suhu yang direkomendasikan dapat menyebabkan denaturasi protein DAT.¹⁴

Efek samping DAT berat yang mungkin terjadi adalah syok anafilaktik. Hal ini bisa terjadi beberapa menit telah pemberian DAT. Syok anafilaktik merupakan kegawatdaruratan. Gejala yang sering terjadi dapat berupa : 1) Pada kulit meliputi pruritus, angioedema, urtikaria; 2) Pada sistem respirasi meliputi suara serak, *stridor*, *wheezing*, *dispnea* dan sianosis; 3) Pada sistem kardiovaskular meliputi takikardi, nadi terasa lemah, hipotensi dan aritmia.¹⁴ Demam juga dapat dirasakan 20 menit hingga 1 jam sejak pemberian DAT. Kebanyakan demam dirasakan ringan dan dapat diobati dengan menggunakan antipiretik.

Serum sickness dapat juga dirasakan menjadi efek samping dari penggunaan DAT. Onset biasa muncul 7-10 hari setelah pemberian DAT. Gejala yang dirasakan berupa demam, makulopapular pada kulit, atau urtikaria dengan artritis, artralgia, dan limfadenopati. Gejala yang jarang dapat berupa angioedema, glomerulonefritis, sindrom Guillain-Barre, neuritis periferik atau miokarditis.¹⁴

Berdasarkan laporan Lurie dkk. pada 1.433 kasus difteri yang diobati dengan antitoksin antara tahun 1940 dan 1950, persentase efek samping yang ditimbulkan adalah sebagai berikut: anafilaksis, 0,6% (tanpa kematian); reaksi demam, 4,0%; dan *serum sickness*, 8,8%.¹⁵

Selain memiliki efek samping tersebut, ketidaksediaannya DAT yang disebabkan oleh rendahnya derajat ekonomi serta tingginya peraturan yang mengatur produksinya, DAT juga membutuhkan beberapa test dan skrining sebelum digunakan.¹³ DAT juga merupakan antibodi poliklonal yang mengandung berbagai imunoglobulin, yang sebagian besar tidak spesifik untuk toksin difteri. Selain itu, jumlah dan komposisi antibodi yang spesifik untuk toksin difteri akan bervariasi di antara banyak produk.⁶ Berdasarkan hal tersebut, perlu dicari solusi lain dalam menggantikan DAT agar pengobatan difteri dapat dilakukan dengan cepat dan efisien.

Human Monoclonal Antibody (HMAb) bisa menjadi pilihan dalam menggantikan DAT.^{4,6,7} HMAb bisa menjadi solusi pemecahan masalah dalam produksi antisera, termasuk pembatasan penyediaan, biaya produksi yang tinggi, risiko hipersensitivitas, serta potensi risiko dekontaminasi produk yang berasal dari darah kuda.¹³

Human Monoclonal Antibody (HMAb) merupakan produk antibodi monoklonal terdiri dari satu molekul antibodi dengan spesifisitas tunggal.⁶ Beberapa penelitian menyatakan bahwa *Monoclonal Antibody* (MAb) dapat mengurangi toksisitas toxin difteri, namun sejauh ini penelitian tersebut dilakukan secara in vitro dan MAb yang diuji bersumber dari hewan.^{16,17} Saat ini HMAb bisa didapatkan melalui plasma darah manusia yang telah mendapatkan dosis booster vaksin DPT.⁵ Konsentrasi IgG yang didapat dari vaksinasi DPT tidak lebih dari 0.3 IU/ml. Menurut penelitian Damasco, antibodi IgG spesifik toksin difteri bisa diklasifikasikan menjadi 3 kelompok: <0.1 IU/ml untuk tidak memiliki kemampuan melindungi dari toksin difteri; antara 0.1-0.9 IU/ml untuk melindungi sebagian dari toksin difteri; dan ≥1.0 IU/ml untuk secara menyeluruh melindungi dari toksin difteri. Pada pemberian booster dosis tinggi, konsentrasi ini meningkat menjadi 10 IU/ml setelah pemberian vaksin. Revaksinasi dengan plasma donor titer tinggi, dapat meningkatkan produksi IgG lebih dari 60-100 IU/ml.⁵ Prevalensi igG antitoksin terdapat pada usia ≥35 tahun (73.6%) dengan rata-rata 31-40 tahun.¹⁸

Berdasarkan penelitian Smith, 2016, yang menggunakan babi sebagai hewan coba, dengan menyuntikkan HMAb S315 yang merupakan antibodi IgG1 secara subkutan, semua hewan coba tidak bertahan dari intoksikasi difteri dengan pemberian HMAb dosis kurang dari 22.5 mcg. Semua hewan dapat bertahan hidup dari toksin difteri dengan dosis ≥ 27.5 mcg HMAb. Untuk dosis 25 mcg, 1 dari 5 hewan hidup pada percobaan pertama, dan 4 dari 5 hidup pada percobaan kedua.⁶

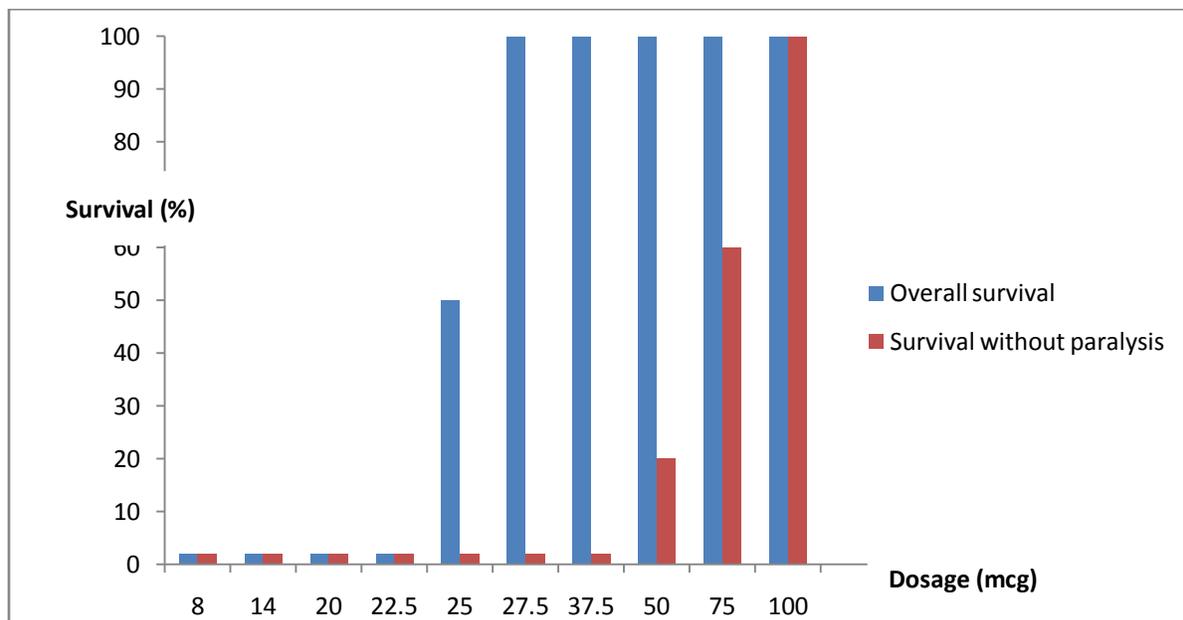
Hewan yang berhasil bertahan hidup dengan menggunakan DAT ataupun HMAb biasanya menunjukkan kelemahan ekstremitas belakang. Semua dari 5 hewan percobaan yang diberi dosis HMAb 25-37.5 mcg berhasil bertahan hidup namun mengalami paralisis ekstremitas belakang. Pada dosis 100 mcg semua dari 5 hewan berhasil bertahan hidup tanpa ada paralisis dari ekstremitas belakang.⁶ Perbandingan tingkat bertahan hidup dengan dosis yang diberikan pada penelitian tersebut digambarkan pada gambar 1.

Menurut penelitian yang dilakukan di *Massachussetts Biologic Laboratories* (MBL),

HMAb memiliki potensi dan efisiensi yang cukup tinggi untuk melindungi babi percobaan dari intoksikasi difteri secara *in vivo*.¹⁸ HMAb akan berikatan dengan toksin difteri, sehingga menghambat toksin difteri berikatan dengan reseptor *Heparin-binding Epidermal Growth Factor* (HB-EGF).¹⁹

Difteri memiliki beberapa domain fungsional. Fragmen A fokus pada domain katalitik, Fragmen B terdiri dari domain Translokasi (T) dan *Receptor-binding* (R). HMAb akan berikatan dengan R domain dari difteri. Uji dengan ELISA menunjukkan bahwa HMAb menurunkan terjadinya ikatan antara toksin difteri dan fragmen B dengan HB-EGF. HMAb memiliki potensi yang baik dalam menetralkan toksin difteri baik secara *in vitro* dan *in vivo*.^{4,19}

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kakita, HMAb menghambat secara langsung fragmen B dari toksin difteri dan menunjukkan hasil yang sangat baik dalam menetralkan toksin difteri (73.6 IU/mg). HMAb dapat menjadi pilihan yang baik untuk menggantikan penggunaan dari DAT.²⁰



Gambar 1. Persentase Kemampuan Bertahan Hidup Hewan Coba Berdasarkan Dosis HMAb yang Diberikan.⁷

Ringkasan

Kejadian luar biasa difteri merupakan masalah di Indonesia sejak tahun 2011. Penatalaksanaan difteri yang terlambat akan menyebabkan terjadinya peningkatan risiko komplikasi 30% kematian bila pemberian DAT ditunda hingga hari ke enam. Difteri antitoksin memiliki banyak efek samping dan peraturan yang ketat dalam mengatur produksinya, serta membutuhkan tes dan skrining sebelum dapat digunakan. Berdasarkan hal tersebut, penting untuk dicari solusi lain dalam menggantikan DAT.

Human Monoclonal Antibody (HMAb) memiliki potensi yang baik dalam menetralkan toksin difteri baik secara *in vitro* dan *in vivo*. Secara *in vitro*, pada uji ELISA menunjukkan bahwa HMAb menurunkan terjadinya ikatan antara toksin difteri dan fragmen B difteri dengan reseptor HB-EGF. Secara *in vivo*, HMAb dosis 100 mcg yang ujikan pada babi, semua berhasil bertahan hidup tanpa ada paralisis dari ekstremitas belakang. HMAb dapat di ambil dari plasma seseorang yang sudah di *booster* dengan vaksin difteri sehingga dapat diproduksi dengan mudah. HMAb bisa menjadi pilihan yang baik dalam menggantikan DAT.

Simpulan

Human Monoclonal Antibody (HMAb) dapat menjadi pilihan dalam menggantikan DAT yang dipakai selama ini. HMAb mampu menghambat terjadinya ikatan antara toksin difteri dan fragmen B dengan HB-EGF. Berbagai penelitian membuktikan bahwa HMAb dapat mengurangi toksisitas difteri. HMAb dapat diproduksi dari plasma seseorang yang sudah mendapatkan booster vaksin difteri sehingga mudah untuk didapatkan. HMAb dapat menjadi pilihan yang sangat baik untuk menggantikan penggunaan DAT.

Daftar Pustaka

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Profil kesehatan indonesia tahun 2017. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2018.
2. Husada D, Puspitasari P, Kartina L, Setiono P, Moedjito I, Kartika B. Six-year surveillance of diphtheria outbreak in indonesia. Open

- Forum Infect Disease. 2017; 4 (Suppl 1): S244.
3. World Health Organization. Update on diphtheria in indonesia. World Health Organization; 2017.
4. Huygen, Kris. Development of human monoclonal antibodies to diphtheria toxin: a solution for increasing lack of equine DAT for therapeutic use?. *Virulence*. 2016; 7(6): 613-15.
5. Martin JFB, Alonso AA, Rivera MG, Tamayo E, Eiros JM, Almansa R. Postbooster antibodies from humans as source of diphtheria antitoxin. *Emerging Infectious Disease*. 2016; 22(7): 1265-7.
6. Smith HL, Cheslock P, Leney M, Barton B, Molrine DC. Potency of a human monoclonal antibody to diphtheria toxin relative to equine diphtheria anti-toxin in a guinea pig intoxication model. *Virulence*. 2016; 7(6): 660-8.
7. Smith HL, Saia G, Lobikin M, Tiwari T, Cheng SC, Molrine DC. Characterization of serum anti-diphtheria antibody activity following administration of equine anti-toxin for suspected diphtheria. *Human Vaccine & Immunotherapeutics*. 2017; 13(11):2738-41.
8. Hartoyo E. Difteri pada anak. *Sari Pediatri*. 2018; 19(5):300-6.
9. Sariadji K, Sunarno. Toksigenitas corynebacterium diphtheriae pada sampel kejadian luar biasa difteri pada tahun 2010-2015 menggunakan elektet. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2017; 6(1):208-12.
10. Weinbaum C, editor. *Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases 13th Edition*. CDC; 2015.
11. Fitriana, Novriani H. Penatalaksanaan Difteri. *Journal of the Indonesian Medical Association*. 2014; 64(2):541-5.
12. World Health Organization. Diphtheria anti-toxin (DAT) supply issues: brief review and proposition. World Health Organization; 2017.
13. Both L, White J, Mandal S, Efstratiou A. access to diphtheria antitoxin for therapy and diagnostics. *Euro Surveillance*. 2014; 19(24): 19-24.

14. The *Centers for Disease Control and Prevention*. Expanded access investigational new drug (IND) application protocol: use of diphtheria antitoxin (DAT) for suspected diphtheria cases. Atlanta: The *Centers for Disease Control and Prevention*; 2016.
15. Lurie P, Stanford H, Tran P, Teacher L, Ankeny R, Barron N, *et al.* Fatal respiratory diphtheria in a U.S. traveler to Haiti--Pennsylvania, 2003. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2004; 52(53):1285-6
16. Usuwanthim, Kanchana, Pootong, Anek, Chaisri, Urai, *et al.* Murine monoclonal antibodies neutralizing the cytotoxic activity of diphtheria toxin. *Asian Pacific journal of Allergy and Immunology*. 2008; 26(1). 47-55.
17. Hamaoka M, Chinen I, Murata T, Takashima S, Iwamoto R, Mekada E. Anti-human HB-EGF monoclonal antibodies inhibiting ectodomain shedding of HB-EGF and diphtheria toxin binding. *The Journal of Biochemistry*. 2010; 148(1):55-69.
18. Damasco PV, Pimenta FP, Filardy AA, Brito SM, Andrade AFB, Lopes GS, *et al.* Short report: prevalence of IgG diphtheria antitoxin in blood donors in rio de janeiro. *Epidemiology of Infection*. 2005; 133: 911-4.
19. Salvigny LM, Booth BJ, Rowley KJ, Leav BA, Cheslock PS, Garrity KA, *et al.* Identification of a human monoclonal antibody to replace equine diphtheria antitoxin for treatment of diphtheria intoxication. *Infection and Immunity*. 2013; 81 (11): 3992-4000.
20. Kakita M, Takahashi T, Komiya T, Iba Y, Tsuji T, Kurosawa Y, Takahashi M. Isolation of A human monoclonal antibody with strong neutralizing activity against diphtheria toxin. *InfectImmun*.2006;74:3682-3

