

Vaksin SARS-CoV-2: Tinjauan Kepustakaan

Dominicus Husada

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya

Abstrak

Pandemi virus Systemic Acute Respiratory Syndrome–coronavirus-2 (SARS-CoV-2) belum dapat dihentikan hingga pertengahan Juni 2020. Kesulitan menemukan obat mujarab untuk penyakit ini membuat kehadiran vaksin menjadi sangat berharga. Pada saat ini ada lebih dari 100 kandidat vaksin di seluruh dunia, dengan sedikitnya 10 di antaranya telah mulai menjalani uji klinik pada manusia. Vaksin pada tahap terjauh adalah dari University of Oxford yang telah memasuki fase 3. Pendekatan yang digunakan dalam pembuatan vaksin berlainan, dan beberapa cara belum pernah digunakan sebelumnya. Sebagian vaksin dalam penelitian adalah vaksin yang awalnya ditrujukan untuk SARS-CoV yang lama maupun Middle East Respiratory Syndrome–coronavirus (MERS-CoV). Target utama pada umumnya adalah protein spike S. Beberapa kendala perlu diperhatikan dalam upaya penelitian vaksin ini, seperti belum pernah adanya vaksin untuk virus corona, fenomena antibody-dependent enhancement (ADE), serta kemungkinan imunopotensiasi. Di Indonesia ada 4 lembaga yang juga meneliti vaksin, ditambah 3 lembaga lain yang bekerja sama dengan institusi di luar negeri untuk langsung masuk dalam fase uji klinik. Setelah vaksin ditemukan perlu adanya jaminan kesetaraan dalam memperoleh akses antar berbagai negara.

Kata kunci: SARS-CoV-2, Vaksin, Pandemi, Uji klinik

Vaccine for SARS-CoV-2: A Review

Dominicus Husada

Faculty of Medicine Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

Abstract

The pandemic of Systemic Acute Respiratory Syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2) could not be stopped until mid-June 2020. The difficulty in finding a panacea for this disease made the vaccine very valuable. At present there are more than 100 vaccine candidates worldwide, with at least 10 have begun undergoing clinical trials in humans. The vaccine at its farthest stage is from the University of Oxford, which has entered phase 3. There are multiple approaches in vaccine research, and some methods have never been used before. Some of the vaccines in the study were originally intended for the previous SARS-CoV and Middle East Respiratory Syndrome-coronavirus (MERS-CoV). The main target in general is the protein spike S. Several obstacles need to be considered, such as the absence of a vaccine for the corona virus, the antibody-dependent enhancement (ADE) mechanism, and the possibility of immunopotential. In Indonesia there are 4 teams with vaccine research, and 3 other companies that work with international institutions abroad to directly enter the clinical trial phase 2 or 3. After the vaccine has been found, it is necessary to guarantee equality in gaining access among various countries.

Keywords: SARS-CoV-2, Vaccine, Pandemic, Clinical trial

Pendahuluan

Penyakit Covid-19 yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2 telah menjadi pandemi sejak awal 2020. Kasus pertama dilaporkan dari China di akhir 2019 dan selanjutnya menyebar ke seluruh dunia.¹⁻³ Hingga awal Juni 2020 ada sekitar 125 negara yang mempunyai sedikitnya satu kasus positif di wilayahnya. Hanya tersisa Korea Utara dan beberapa negara kecil yang menyatakan tidak mempunyai kasus positif Covid-19 satupun.⁴ Jumlah penderita pada minggu ketiga Juni 2020 telah melewati 9 juta orang di seluruh dunia. Tiga negara dengan penderita terbanyak adalah Amerika Serikat, Brazil, dan Rusia. Kematian telah mendekati angka setengah juta orang berbagai usia. Di Asia Tenggara, penderita terbanyak ditemukan di Indonesia, Singapura, dan Filipina.⁴ Kasus di Indonesia hingga minggu ketiga Juni berjumlah lebih dari 45 ribu orang dengan sekitar 2.500 kematian. Seluruh provinsi telah melaporkan kasus sekalipun ada beberapa daerah tingkat II yang tidak mempunyai kasus (data dari Gugus Tugas Percepatan Penanganan Covid-19).

Hingga Juni 2020 atau sekitar 6 bulan sejak pertama kali penyakit ini diumumkan belum ada satu pun obat mujarab yang diterima secara luas oleh kalangan medis. Remdesivir menjadi satu-satunya obat yang dilisen-

si oleh FDA di Amerika Serikat. Remdesivir adalah obat yang awalnya ditujukan untuk virus Ebola, tetapi tidak cukup berhasil.⁵ Beberapa obat lain seperti klorokuin dan hidroksiklorokuin, lopinavir-ritonavir yang biasa digunakan untuk virus HIV, oseltamivir yang dipakai pada kasus influenza, dan favipirnavir yang juga ditujukan untuk influenza, tetapi tidak berhasil (di Jepang) belum dapat menunjukkan manfaat yang bermakna.⁶⁻⁹ Beberapa obat baru yang belum pernah digunakan sebelumnya (seperti tocilizumab) juga dikaji, tetapi memerlukan waktu untuk menunjukkan keberhasilan.¹⁰ Secara umum, patofisiologi penyakit SARS-CoV-2 menyangkut disfungsi reaksi imunologi, maka unsur terapi yang menarget virus sama pentingnya dengan yang mengendalikan respons inflamasi. Pada penyakit ini kemampuan virus dan respons inang sama berkontribusi untuk keparahan penyakit. Pada minggu ketiga Juni 2020, peneliti dalam grup Recovery Trial di Inggris mengumumkan keberhasilan deksametason mengurangi kematian pada kelompok penderita berat dengan bantuan pernapasan. Obat ini tidak bersifat pencegahan dan tidak diberikan untuk kelompok yang bergejala ringan.¹¹ Pemakaian steriloid untuk SARS-CoV-2 telah dipikirkan sebelumnya dan secara sporadis di berbagai institusi mempraktikkan, sekalipun hasil yang melalui penelitian terstruktur barulah yang

berasal dari Inggris.^{11,12}

Ketika obat mujarab tidak ada, harapan tertuju pada pengobatan lain seperti sel punca mesenchymal (mesenchymal stem cell), plasma konvalesen dari penderita yang sudah sembuh, dan upaya pencegahan melalui vaksin.^{13,14} Ketiga upaya yang terakhir ini seluruhnya juga sedang berada dalam tahap penelitian.

Keberhasilan Vaksin

Vaksin adalah satu dari dua metode dalam kesehatan masyarakat yang paling berhasil secara efektif dan efisien. Vaksin terbukti mengurangi kematian, mencegah sakit, dan meningkatkan kemungkinan sembuh.¹⁵⁻¹⁸ Keberhasilan vaksin telah terbukti jika melihat telah ada 3 penyakit yang dimusnahkan di dunia yaitu cacar yang dinyatakan musnah oleh WHO pada tahun 1978, polio (hanya tersisa beberapa penderita di Pakistan dan Afganistan, sementara sebagian besar negara di dunia sudah tidak mempunyai kasus pada manusia), dan rinderpest pada sapi.^{16,17}

Peran besar vaksin menjadi lebih nyata ketika penyakit yang dituju tidak mempunyai obat mujarab. Ketiga penyakit yang disebutkan di atas tidak mempunyai obat definitif. Peran pencegahan menjadi lebih signifikan dalam hal ini. Pada penyakit infeksi lain vaksin juga menunjukkan keberhasilan yang luar biasa, paling tidak jika dilakukan perbandingan jumlah kasus pada era sebelum vaksin dengan situasi saat ini.¹⁵⁻¹⁸

Vaksin modern dipelopori oleh Edward Jenner yang mengimunisasi seorang anak berusia 8 tahun, James Phipps, dalam upaya mencegah penyakit cacar pada manusia.¹⁹ Sekalipun tindakan Jenner merupakan pelanggaran beberapa aspek etik dan sains, tindakan itu ternyata berhasil dan perkembangan vaksin kemudian menjadi lebih marak.

Sampai tahun 2020 ini di dunia hanya ada sekitar 40 vaksin untuk manusia. Tujuh belas vaksin di antaranya, ditujukan untuk infeksi virus.²⁰ Dari tujuh belas, khusus untuk virus pernapasan hanya tersedia 1 vaksin yaitu untuk influenza.²¹ Vaksin influenza yang ada saat ini mempunyai efektivitas yang terbatas terhadap influenza musiman serta tidak akan mampu mengatasi influenza yang bersifat pandemik.²² Hal ini menunjukkan betapa penemuan vaksin hingga ke tahap penggunaan secara luas memerlukan waktu yang sangat panjang, dengan proses yang rumit, dan dengan sumber daya yang sangat besar.¹⁶⁻¹⁸ Subyek manusia membutuhkan kehati-hatian, apalagi jika diingat vaksin diberikan pada individu yang sehat (kecuali vaksin terapeutik).¹⁷ Rerata waktu yang diperlukan bagi sebuah vaksin sejak tahap preklinik hingga dipasarkan untuk manusia adalah 10 tahun.^{15,23} Vaksin tertentu seperti Ebola memerlukan 43 tahun

dan baru dipasarkan sejak 2019. Vaksin dengue memerlukan waktu lebih dari 20 tahun. Vaksin CMV dan HIV belum terealisasi hingga saat ini sekalipun miliaran dolar telah dihabiskan.²³ Pada setiap vaksin selalu tersedia banyak kandidat di fase awal. Secara umum hanya sekitar 6% vaksin yang akan berhasil hingga ke tingkat manusia dalam skala besar sedangkan sisanya akan gugur dalam berbagai fase.²³

Ketidakpastian pada penelitian vaksin ada 2: *biologic uncertainty* dan *execution uncertainty*. Dua komponen utama dari unsur pertama adalah aspek keamanan dan imunogenisitas. Kadang aspek keamanan bisa dipertimbangkan sedikit dengan mempertimbangkan semua penerima vaksin adalah manusia sehat. Keberhasilan vaksin juga akan dievaluasi dari kemampuannya memperpanjang masa inkubasi serta kemampuan membangkitkan imunogenisitas yang protektif dan lebar. Hal ketiga yang juga bisa dipertimbangkan adalah *infectious inoculum intensity* untuk penggunaan individual, dan *force of infection* untuk penggunaan di populasi.²⁰

Virus SARS-CoV-2

Pandemi SARS-CoV-2 adalah kasus ketiga yang dihadapi umat manusia dengan virus corona. Kasus pertama yang dialami tahun 2002–2003 adalah menghadapi virus *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus* (SARS-CoV) yang juga terjadi di China dan Hong Kong. Kasus virus corona kedua bahkan terjadi hingga saat ini. Penyakit *Middle East Respiratory Syndrome – Coronavirus* (MERS-CoV) muncul di Saudi Arabia dan belum dapat diselesaikan hingga saat ini.^{24,25} Ketiga virus corona penyebab wabah dalam skala besar termasuk dalam genus betacoronavirus.²⁶ Dalam praktik sehari-hari ada 4 virus corona lain yang biasanya menginfeksi saluran pernapasan atas dan menyebabkan gejala dan tanda ringan. Keempatnya adalah human coronavirus 229E, NL63, OC43, dan HKU1. Dampak keempat virus corona ini tentu sangat berbeda dengan ketiga virus corona lain di atas.^{27,28} SARS-CoV-2 mempunyai sekuens genetik yang mirip dengan SARS-CoV dan MERS-CoV sebanyak 79% dan 50%. Beberapa protein pada SARS-CoV-2 mempunyai 68% kesamaan susunan asam amino dengan virus SARS-CoV.^{26,29} Kemampuan membunuh SARS-CoV-2 tidak seberbahaya SARS-CoV, tetapi kemampuan menginfeksi orang lain lebih tinggi pada SARS-CoV-2.³⁰ Fakta bahwa kedua SARS-CoV menggunakan reseptor ACE2 dan mempunyai kesamaan sekuens genetik pada tingkat tertentu merupakan dasar mengapa peneliti menggunakan prototipe vaksin SARS-CoV untuk SARS-CoV-2.^{1,31}

Jenis Kandidat Vaksin SARS-CoV-2

Sebenarnya beberapa perusahaan vaksin dan lembaga penelitian telah melakukan berbagai penelitian untuk memperoleh vaksin menghadapi kedua virus corona terdahulu.³² Vaksin SARS tidak sempat diuji coba secara massal karena penyakit tersebut dapat dikendalikan dan kemudian tidak muncul lagi. Vaksin MERS-CoV belum cukup berhasil dan terus dikembangkan.³² Pada saat ini ada vaksin SARS-CoV-2 yang merupakan modifikasi dari kedua vaksin di atas tetapi lebih banyak lagi kandidat yang relatif baru dibuat dan diteliti.^{26,32} Tabel 1 menampilkan platform atau metode vaksin yang digunakan dalam penelitian kandidat vaksin SARS-CoV-2.^{26,33-36}

Tabel 1. Beberapa Metode dan Antigen yang pada kandidat vaksin SARS-CoV-2^{26,33,34}

Platform	Imunogen
DNA	- Full length spike atau S1 - IM diikuti oleh electroporation
Vektor virus	- Full length spike atau S1 - Vektor: ChAd atau MVA
Subunit	- Full length spike, S1, RBD (receptor binding domain), atau nukleokapsid - Diformulasi dengan berbagai adjuvan dan atau digabung dengan Fc
Virus-like particles	- RDB, S, atau co-expressing S1, M, dan E - Diproduksi di baculovirus
Inactivated	- Seluruh virus - Inactivated dengan formaldehid atau radiasi gamma
Virus hidup dilemahkan (live attenuated virus)	-MERS-CoV mutan dan SARS-CoV atau rekombinasi dengan virus hidup dilemahkan lain

Ada beberapa metode yang digunakan dalam penelitian vaksin SARS-CoV-2. Sebagian besar tim peneliti menggunakan pendekatan protein sebagai dasar.^{23,37} Hal ini sejalan dengan situasi mayoritas vaksin yang sekarang ada di dunia. Protein yang digunakan dapat berupa sub unit maupun virus-like particle (VLP). VLP adalah selongsong virus yang kosong karena materi genetik telah dibuang. Pendekatan kedua menggunakan virus lain sebagai vektor pembawa ke dalam tubuh. Virus adeno adalah salah satu contoh pembawa yang baik. Virus pembawa bisa berbiak di

dalam sel, seperti penggunaan virus campak dilemahkan, tetapi bisa juga non-replicating seperti virus adeno. Belum ada vaksin beredar dengan pembawa virus adeno, tetapi penggunaan virus adeno telah dikenal sejak lama untuk terapi genetik.^{23,37,38}

Pendekatan ketiga menggunakan virus SARS-CoV-2 sendiri, baik yang dimatikan maupun yang dilemahkan. Selanjutnya yang juga digunakan oleh beberapa tim peneliti adalah menggunakan asam nukleat yang ada dalam virus, baik berupa DNA maupun RNA. Pendekatan ini relatif baru dan belum pernah diterapkan sebelumnya.^{37,38} Terakhir, ada sekitar 10 tim peneliti yang menggunakan dasar pendekatan di luar keempat hal di atas.^{37,38}

Kriteria yang dikehendaki untuk vaksin SARS-CoV-2, selain yang berlaku untuk vaksin secara umum, antara lain adalah (1) meminimalkan efek samping seperti imunopotensiasi, (2) sesuai untuk tenaga kesehatan, (3) sesuai untuk orang berusia di atas 60 tahun atau yang mempunyai penyakit diabetes dan hipertensi, serta (4) dapat disimpan untuk jangka waktu lama. Poin 2 dan 3 di atas adalah target utama yang merupakan kelompok yang paling rentan dalam pandemi kali ini.^{23,39}

Vaksin whole-virus antara lain dikembangkan oleh University of Hong Kong dengan memanfaatkan vaksin influenza hidup, perusahaan Johnson & Johnson, dan Codagenix (bekerja sama dengan Serum Institute India). Keuntungan vaksin jenis ini adalah imunogenisitas inheren serta kemampuan menstimulasi toll-like receptor (TLR).^{39,40} Vaksin subunit mendasarkan potensinya pada kemampuan membangkitkan respon imun terhadap protein spike S yang akan mencegah perlekatan dengan reseptor ACE2. University of Queensland, Novavax, Clover Pharmaceuticals, Vaxart, dan konsorsium yang dipimpin Baylor College of Medicine, adalah beberapa institusi yang bekerja pada vaksin jenis ini.^{39,41,42} Vaksin dengan metode ini telah digunakan cukup banyak di dunia dan berbagai perusahaan pada saat ini mempunyai kapasitas produksi yang besar.³⁴ Keuntungan vaksin berbasis receptor binding domain (RBD) atau protein S adalah kemampuan meminimalkan imunopotensiasi yang berbahaya.^{39,40}

Vaksin asam nukleat dapat menggunakan komponen RNA maupun DNA. Inovio adalah contoh institusi yang mengerjakan vaksin DNA sedangkan yang meneliti vaksin RNA lebih banyak seperti Moderna Therapeutics (Amerika Serikat), dan CureVac. Vaksin DNA dimulai dengan keberhasilan vaksin

influenza pada tikus pada tahun 1993. Sayang keberhasilan yang sama tidak terlihat pada manusia, selama ini. Untuk SARS-CoV-2, beberapa penyempurnaan telah dilakukan dengan harapan hasil yang jauh lebih memuaskan.⁴³ Keuntungan vaksin mRNA adalah harga yang lebih murah, proses yang cepat dan lebih mudah. Fleksibilitas memanipulasi antigen adalah keuntungan lain.^{34,44} Vaksin ini menggunakan molekul RNA sintesis yang ditujukan untuk protein tunggal dari virus SARS-CoV-2. Hal ini membuat vaksin lebih aman, terutama karena tidak melibatkan virus hidup. Proses untuk vaksin Moderna menjadi lebih cepat lagi karena regulator memungkinkan penelitian hewan dilakukan bersamaan dengan manusia.⁴⁴

The Coalition for Epidemic Preparedness Innovations (CEPI) didirikan 3 tahun lalu dengan tujuan menjamin kesiapan dunia menghadapi penyakit baru yang mewabah. CEPI memulai upaya penemuan vaksin SARS-CoV-2 secara terkoordinasi sejak Februari 2020. CEPI membuka kesempatan para peneliti atau perusahaan vaksin untuk mengirimkan proposal dan kemudian 8 institusi dipilih sebagai pemenang.^{34,44} Kedelapan institusi adalah Moderna, *CureVac* (Tubingen, Jerman), *Novavax*, *Inovio*, *University of Hong Kong*, konsorsium di bawah koordinasi Institut Pasteur, *University of Queensland*, dan *University of Oxford*. Metode yang dipakai oleh kedelapan institusi di atas berbeda-beda.⁴⁴

Vaksin Pasteur menggunakan virus campak dilemahkan, sedangkan vaksin *Queensland* menggunakan protein S yang dikembangkan dengan teknologi molekuler. Polipeptida yang dibuat di laboratorium diharapkan dapat menjepit protein spike sehingga tubuh dapat membersihkan sebelum virus tersebut menempel pada sel. Vaksin *Inovio* telah memulai fase 1 pada manusia sejak 6 April 2020. Vaksin *Oxford* memulai rekrutmen tanggal 27 Maret 2020.⁴⁴

Di luar CEPI masih ada ratusan institusi yang bekerja dengan tujuan yang sama. Shenzhen Geno-Immune Medical Institute (Guangdong, China) meneliti dua kandidat vaksin dengan metode vektor lentiviral untuk memodifikasi sel untuk mengekspresi gen virus dan mengaktifkan sel T.⁴⁴ *University of Pittsburgh* menggunakan potongan protein virus yang dibuat di laboratorium. Kelompok ini juga meneliti jarum mikro untuk membawa protein S ke kulit guna meningkatkan potensi.⁴⁴

CanSino di Tianjin memulai fase 1

pada 18 Maret 2020 dengan menggunakan rekombinan virus adeno. Fase 2 vaksin ini telah dimulai pada 12 April 2020.⁴⁴⁻⁴⁶ Fase 1 dilakukan pada 108 orang dewasa berusia 18–60 tahun. Serokonversi terdokumentasi pada 50–75% partisipan yang menerima dosis sedang dan tinggi. Kejadian ikutan yang tersering dilaporkan adalah demam, kelelahan, nyeri kepala dan nyeri otot, yang lebih sering terlihat pada kelompok dengan dosis tinggi, sekalipun tidak melewati derajat sedang.⁴⁵ Tingginya antibodi berhubungan dengan kemampuan proteksi saat dilakukan virus challenge.⁴⁷ Fase 2 penelitian akan dilakukan di China dan Kanada.^{45,46} Penelitian juga membuka fakta bahwa beberapa faktor inang mungkin mempengaruhi hasil, seperti usia tua dan kekebalan terhadap virus Ad5 sebelumnya.^{45,46} Secara umum vaksin dengan vektor virus memungkinkan ekspresi protein tingkat tinggi, stabilitas jangka panjang, dan menginduksi respon imun yang kuat.³⁴

Kesulitan

Pada dasarnya ada beberapa kesulitan dalam penelitian vaksin pandemi yang sekarang terjadi. Pertama, vaksin virus corona belum pernah beredar di pasaran. Virus corona diperkirakan merupakan 20–25% dari seluruh kasus selesma pada manusia, tetapi karena derajat penyakit pada umumnya ringan, kebutuhan akan vaksin dianggap tidak mendesak.^{32,35,36} Kedua, masih banyak aspek imunologi yang belum terungkap dari virus SARS-CoV-2. Cukup banyak penelitian telah dipublikasi, tetapi ada lebih banyak lagi pertanyaan hingga saat ini. Padahal aspek imunologi adalah kunci utama vaksin.^{32,48} Untung saja ketersediaan teknologi modern membuat proses yang biasanya memerlukan waktu panjang mampu diperpendek. Sekuen gen virus, identifikasi reseptor, penemuan beberapa protein penting, serta penemuan komponen antibodi pada manusia relatif cepat diselesaikan.^{25,32} Sekalipun protein S merupakan target utama dari kandidat vaksin belum diketahui apakah antibodi anti protein S mampu melindungi manusia dari SARS-CoV-2 dan jika memang melindungi seberapa banyak perlindungan bisa didapatkan.^{21,35} Antibodi terhadap protein S memang terbukti protektif pada hewan coba dan ditemukan pada serum konvalesen penderita SARS-CoV dan SARS-CoV-2.⁴⁹⁻⁵¹ Data menunjukkan bahwa 94% pasien yang sembuh dari SARS-CoV-2 yang ringan mempunyai antibodi netralisasi dalam waktu 2 minggu setelah munculnya gejala,

tetapi titer antibodi netralisasi hanya berhubungan moderately (tingkat sedang) dengan antibodi terhadap protein S.⁵²

Secara sederhana pada SARS-CoV yang lama respon sel B terhadap protein nukleokapsid akan muncul lebih dahulu. Pada 4–8 hari setelah dimulainya gejala akan ditemukan antibodi terhadap protein S.^{53,54} Respons antibodi netralisasi, terutama terhadap protein S, akan muncul pada minggu kedua dan pada minggu ketiga hampir semua pasien telah mempunyai antibodi netralisasi.⁵⁵ Pada SARS-CoV-2 respons antibodi muncul lebih cepat, sekalipun ada sebagian penderita yang tidak akan mempunyai antibodi yang bertahan lama terhadap virus ini.²⁵ Mekanisme correlate of protection pada SARS-CoV-2 belum sepenuhnya didapatkan dan repertoire antibodi belum diketahui secara utuh.²⁵ Pada SARS-CoV yang lama target utama antibodi netralisasi adalah daerah receptor binding domain (RBD) pada protein S.^{32,56} Kebanyakan antibodi monoklonal dari SARS-CoV yang lama tidak dapat berikatan dengan SARS-CoV-2.¹⁷ Data terbatas dari China menunjukkan bahwa IgM mencapai puncak pada hari ke-9 dan IgG muncul minggu kedua. Reaksi silang bisa didapatkan antara penderita SARS-CoV-2 dengan SARS-CoV tetapi tidak dengan virus korona yang lain.¹

Ketiga, dari aspek imunologi ini juga masih belum diketahui akan adanya fenomena antibody dependent enhancement (ADE) seperti yang terjadi pada virus dengue.³² Antibodi yang tidak mencapai tingkat netralisasi dapat memperberat sakit. ADE akan menjadi sangat menyulitkan pembuatan vaksin dan merupakan ancaman untuk aspek keamanan penerima. Vaksin yang tidak efektif hanya akan memicu terjadinya ADE yang justru membahayakan.^{23,58} Pada uji in vitro sebelumnya, virus SARS-CoV-2 dapat memasuki makrofag sekalipun pada makrofag tidak banyak reseptor ACE2. Masuknya virus dalam kompartemen endosomal dapat memicu pattern-recognition receptors dan menginduksi kaskade inflamasi.^{46,59,60} Sebaliknya, pada tikus, pemberian antibodi yang menginduksi antibody dependent cellular phagocytosis dan bukan hanya antibodi netralisasi, dapat memperlemah penyakit.⁶¹ Vaksin yang sedang diteliti menggunakan metode yang berbeda dan sangat mungkin ada vaksin yang menginduksi antibodi dengan fungsi yang tidak seragam sehingga kemungkinan yang buruk ini harus selalu diwaspadai.⁶⁰

Keempat, satu bahaya lain yang dipelajari pada vaksin SARS-CoV yang lama

adalah imunopotensiasi yang dapat meningkatkan keparahan penyakit dan infiltrasi eosinofilik.^{40,62} Fenomena merugikan tersebut telah diidentifikasi setelah imunisasi dengan baik whole cell maupun vaksin protein spike. Sebelumnya, peneliti telah menyaksikan hal yang sama pada vaksin RSV.⁴⁰

Kelima, sebagian metode yang dipakai dalam penelitian vaksin terutama RNA dan DNA adalah metode yang relatif baru dan belum pernah digunakan sebelumnya.²³ Keenam, sebagian hasil pada uji coba hewan sebenarnya tidak sangat memuaskan. Diharapkan uji klinik pada manusia setelah perbaikan desain vaksin dan upaya lain dapat memperbaiki atau meningkatkan kemampuan vaksin yang bersangkutan.³²

Adanya banyak pasien SARS-CoV-2 yang sembuh menjadi salah satu dasar penting mengapa para peneliti cukup optimis dengan vaksin ini. Pada HIV kekebalan dalam diri penderita jauh lebih sulit dibangkitkan.⁴⁸ Vaksin HIV yang memberi harapan besar beberapa tahun lalu hanya dapat menimbulkan kekebalan pada 33% sampel dan bertahan hanya selama setahun.⁶³

Situasi Vaksin SARS-CoV-2 di Dunia saat ini

Seperti disebutkan sebelumnya, *Coalition for Epidemic Preparedness Innovations* (CEPI) bertindak sebagai koordinator upaya penemuan vaksin SARS-CoV-2 di seluruh dunia yang melibatkan lebih dari 100 lembaga. Semakin hari semakin banyak lembaga baru bergabung. Salah satu yang dipertimbangkan oleh lembaga pengatur adalah cara mempercepat penelitian tanpa mengorbankan aspek keselamatan dan etik.^{22,34} Human challenge, penggunaan penelitian payung dengan 1 protokol untuk banyak vaksin, serta pembentukan hanya satu kelompok plasebo untuk berbagai komparator adalah hal-hal yang muncul dalam diskusi panjang.²³ Pengalaman sebelumnya dengan vaksin malaria, HIV, dan TB tidak berhasil menentukan penelitian payung dan ini menunjukkan sulitnya upaya koordinasi yang melibatkan banyak pihak dalam urusan vaksin. Jika upaya penyatuan tidak berhasil, alternatif lain seperti penentuan tujuan primer yang sama serta penetapan definisi kasus untuk efek samping yang terkoordinir diharapkan dapat membantu.²³

Pada tanggal 2 Juni 2020 WHO merilis hasil inventarisasi vaksin SARS-CoV-2 di seluruh dunia. Tercatat ada 136 vaksin yang sedang diteliti. Sepuluh vaksin di antaranya sudah

menjalani uji coba pada manusia.^{32,38} Vaksin yang paling jauh melangkah dan sedang menjalani awal fase 3 adalah vaksin Universitas Oxford di Inggris. Vaksin ini menunjukkan hasil menjanjikan pada penelitian hewan dengan tingkat keamanan yang baik. Vaksin ini tidak mampu mencegah masuknya virus ke dalam tubuh, tetapi dapat mencegah terjadinya penyakit yang berat. Universitas Oxford bahkan telah bekerja sama dengan perusahaan farmasi di Eropa serta perusahaan vaksin Serum Institute di India untuk rencana lanjutan guna kepentingan produksi masal.^{23,26}

Vaksin Oxford diujicobakan pada orang dewasa muda berusia 18–65 tahun, baik di kelompok pekerja kesehatan maupun masyarakat awam. Rekrutmen terhadap lebih dari 10 ribu orang sudah dilewati. Sebagian kecil dari sampel juga berasal dari kelompok anak dan kelompok lanjut usia. Efikasi pada kedua kelompok minoritas ini juga perlu diteliti.²³ Vaksin lain yang juga sudah ke manusia tercantum dalam Tabel 2. Jika dirunut fase uji coba pada hewan baru berakhir pada bulan Februari dan di bulan Juni 2020 vaksin ini telah dicoba pada manusia pada fase 3. Jangka waktu yang dilewati ini begitu singkat dan merupakan efek dari perkembangan teknologi vaksin yang sangat cepat. Vaksin Moderna telah memulai tahap uji klinik pada manusia pada tanggal 16 Maret 2020 sedangkan sekuen genetik SARS-CoV-2 dipublikasi pada tanggal 11 Januari 2020.³⁴

Dua kandidat vaksin yaitu PiCoVacc (inactivated) dan CoV-RBD219N1 (basis protein rekombinan) menunjukkan hasil baik pada uji preklinik dengan kemampuan menginduksi titer antibodi netralisasi terhadap protein S yang tinggi. Uji preklinik ini dilakukan pada kera besar atau tikus.⁶⁴⁻⁶⁶ Tidak ditemukan virus pada faring hewan coba dan seluruhnya hidup dibandingkan dengan kematian 100% pada kelompok kontrol.⁶⁵ Kadar antibodi netralisasi yang dihasilkan pada kedua hewan coba tinggi.^{64,65}

Kandidat vaksin Universitas Oxford menggabungkan virus adeno dari simpanse dengan DNA dari protein S SARS-CoV-2. Virus adeno sendiri sudah imunogenik. Perpaduan ini diharapkan mampu membangkitkan sel memori dan sel T yang sangat baik. Persoalan yang masih harus ditunggu adalah selama ini belum ada vaksin berbasis vektor virus adeno di pasaran.²³ Meskipun demikian, perpaduan dengan virus adeno telah digunakan dalam skala besar sebagai terapi genetik untuk beberapa penyakit seperti kardiomiopati.²³

Kedua kandidat vaksin virus adeno dari Universitas Oxford dan CanSino menunjukkan hasil yang tidak sebaik kedua vaksin di atas. Titer antibodi netralisasi yang muncul dari vaksin Oxford hanya mampu memberi perlindungan parsial.⁶⁷ Dalam laporan pertama vaksin CanSino dinilai mampu meningkatkan titer antibodi netralisasi yang setara dengan titer pada orang dewasa di hari ke-28 setelah sakit. Setelah itu kadar r antibodi

Tabel 2. Kandidat vaksin SARS-CoV-2 yang telah Memasuki Uji Klinik pada Manusia^{23,34,38}

No	Nama	Peneliti	Metode	Fase
1	ChAdOx1-S (AZD1222)	Uni Oxford/Astra Zeneca	Non replicating	2b - 3
2	Adenovirus type 5 vector (Ad5-nCoV)	CanSino/Beijing Institute Biotech	viral vector	1 - 2
3	LNP encapsulated mRNA (mRNA-1273)	Moderna/NIAID	RNA	2 - 3
4	3 LNP-mRNAs	BioNTech/Fosun Pharma/Pfizer	RNA	1 - 2
5	BNT162) DNA plasmid vaccine	Inovio Pharmaceuticals	DNA	1
6	Inactivated (Unnamed)	Wuhan Institute of Biological Product/Sinopharm	Inactivated	1 - 2
7	Inactivated (Unnamed)	Beijing Institute of Biological Product/Sinopharm		1 - 2
8	Inactivated+alum (PiCoVacc)	Sinovac		1 - 2
9	Inactivated (Unnamed)	Institute Medical Biology/Chinese Academy of Medical Sciences		1
10	Full length recombinant glycoprotein nanoparticle adjuvanted with Matrix M (NVX-CoV2373)	Novavax	Protein subunit	1 - 2

menurun hingga di bawah kadar antibodi pada plasma konvalesen.^{45,67} Vaksin DNA yang sedang berada pada fase 1 menunjukkan kadar antibodi netralisasi yang relatif setara dengan pada plasma konvalesen.⁴³

Adjuvan

Salah satu isu yang muncul setelah penelitian preklinik adalah penggunaan aluminium sebagai adjuvan. Kedua vaksin Pi-CoVacc dan CoV-RBD219N1 menggunakan aluminium sebagai adjuvan.⁶⁶ Formulasi aluminium dapat membentuk depo subkutan atau intramuskular yang memungkinkan pelepasan antigen secara lambat. Belakangan diketahui bahwa aluminium mengaktifasi dan mengalirkan antigen presenting cells ke jaringan limfoid. Aluminium juga merangsang aktivasi inflamasi dan komplemen.^{66,68} Aluminium telah digunakan sejak dekade 1930-an dengan catatan yang sangat baik.⁶⁶

Secara umum adjuvan memang dapat menaikkan imunogenisitas dan memperkecil dosis. Ini membuat vaksinasi dapat dilakukan pada lebih banyak orang dengan tingkat manfaat yang stabil terjaga. Setidaknya ada 10 tim yang menggunakan adjuvan. Beberapa pengembang adjuvan seperti GlaxoSmith-Kline, Seqirus, dan Dynavax telah merelakan adjuvan terlisensi mereka (AS03, MF59, CpG 1018) digunakan oleh tim peneliti lain khusus untuk proyek SARS-CoV-2.³⁴

Tahapan Penelitian

Vaksin konvensional harus melewati waktu penelitian yang lama. Fase yang dilewati dalam penelitian vaksin serupa dengan obat pada umumnya. Setelah kandidat ditemukan di laboratorium dilakukan uji coba pada hewan yang kemudian disusul uji klinik pada manusia sebanyak 3 fase.¹⁶⁻¹⁸ Sekalipun waktu yang dibutuhkan relatif lebih singkat, fase dalam penelitian relatif tidak berubah. Vaksin dalam konteks wabah yang tercepat yang dihasilkan adalah vaksin flu babi (swine flu) yang dihasilkan saat wabah melanda Meksiko dan Amerika Serikat pada tahun 2009.^{69,70}

Vaksin SARS-CoV-2 pertama diharapkan sudah dipasarkan sejak awal 2021, atau bahkan mungkin akhir 2020. Ini adalah jangka waktu yang luar biasa cepat dan belum dapat dipercaya oleh banyak kalangan.²³ Percepatan dalam proses vaksin diupayakan dalam berbagai fase, seperti pelaksanaan penelitian preklinik bersamaan dengan fase hewan.⁷¹

Evaluasi aspek efikasi dan keamanan yang dilakukan pada fase 3 tampak tidak akan bergantung pada jumlah partisipan yang tertular, tetapi lebih pada pengukuran kadar antibodi yang tentunya lebih cepat. Jika kasus sudah menurun akan sangat sulit menemukan seorang penderita. Sebaliknya, pengukuran kadar antibodi dalam darah dapat dilakukan kapan saja. Hal ini sudah dilakukan untuk penyakit dengan jumlah penderita relatif sedikit seperti meningitis B.^{15,23,34}

Petanda Antibodi

Isu yang mengemuka sehubungan dengan rencana di atas adalah penentuan antibodi yang sah. Petanda laboratoris memerlukan laboratorium sentral untuk memudahkan pengawasan kualitas. Selama ini pengukuran antibodi relatif belum terstandar. Metode yang berbeda dapat saja memberi hasil yang berbeda. Hal ini merupakan salah satu masalah yang lazim ditemukan pada evaluasi penyakit infeksi.²³ Evaluasi kekuatan tes harus selalu dilakukan untuk setiap tes. Kalibrasi rutin adalah keharusan. Kekeliruan mengukur tes antibodi, sama seperti tes lain, akan menghasilkan kesimpulan yang salah, dan selanjutnya tindakan yang salah.⁷²

Vaksin RNA – Moderna

Dari sekian banyak institusi yang terlibat dalam penelitian dan pengembangan vaksin, dominasi Amerika Serikat masih dijumpai. Di Amerika Serikat, kandidat vaksin pertama diumumkan oleh Moderna, yang menggunakan rancangan vaksin RNA.^{23,34} Vaksin RNA adalah sebuah perkembangan revolusioner dalam dunia vaksin. Jika vaksin konvensional memasukkan protein ke dalam tubuh dan kemudian protein tersebut diharapkan membangkitkan respons imun, vaksin RNA akan memasukkan mRNA yang selanjutnya akan membuat protein sesuai kebutuhan.²³ Vaksin RNA telah diteliti sejak beberapa tahun lalu, tetapi hingga saat ini belum ada satupun yang beredar. Keuntungan lain dari vaksin RNA adalah kemampuan produksi yang cepat. Kemampuan menghasilkan 100 juta dosis dapat dipenuhi dalam waktu yang tidak terlalu lama. Moderna akan memulai fase 3 pada akhir Juni atau awal Juli 2020. Hasil sementara di fase 1 dan 2 cukup menjanjikan. Ada lebih dari 30 ribu sampel yang ditarget untuk fase 3 vaksin ini.^{23,34} Moderna telah melakukan uji klinik hanya dalam waktu 66 hari sejak sekuen genetik dipublikasi. Vaksin

ini menarget protein S dari virus.^{23,34} Vaksin Moderna yang digunakan untuk SARS-CoV-2 berasal dari kandidat vaksin untuk MERS-CoV.³⁴

Jumlah Subjek Penelitian

Setelah tragedi vaksin virus rota generasi pertama yang meningkatkan kemungkinan intususepsi pada anak, penelitian vaksin umumnya dilakukan pada sedikitnya 30 ribu subjek. Jumlah ini diharapkan memadai untuk memunculkan efek samping yang jarang sejak fase penelitian. Semua itu dilakukan mengingat subyek adalah manusia. Untuk vaksin hewan, toleransi terhadap faktor keamanan masih bisa dilakukan dalam batas tertentu yang lebih longgar dari pada pada manusia. Moderna menarget 30 ribu sampel pada fase 3 uji klinik, baik di Amerika Serikat maupun di negara lain. Fase 3 ini diharapkan sudah dimulai Juli 2020. Sasaran utama adalah dewasa muda berusia 18–55 tahun, dengan sekelompok kecil kelompok lanjut usia, dan kelompok

dengan penyakit penyerta.⁴⁸

Penentuan jumlah sampel juga ditentukan oleh angka penularan di populasi. Data angka ini pada SARS-CoV-2 belum sepenuhnya terungkap. Jika serangan sedikit maka akan diperlukan sampel dalam jumlah sangat besar.^{15,23}

Vaksin Protein S

Sebagian dari kandidat vaksin SARS-CoV-2 ditujukan terhadap protein S (spike) yang merupakan lokasi perlekatan virus pada reseptor ACE2 pada sel. Bagian ini sangat bermakna dan penting. Setelah berada di dalam sel baru diproduksi lebih banyak virus.^{37,73,74} Pertanyaan yang belum sepenuhnya terjawab adalah menyangkut mutasi di daerah tersebut. Jika protein di daerah yang dituju mengalami perubahan, ada kemungkinan potensi vaksin menjadi bermasalah. Tabel 3 memuat sebagian kandidat vaksin yang mengarah pada protein S.³⁸

Sebagian besar vaksin yang diteliti akan difor-

Tabel 3. Kandidat Vaksin SARS-CoV-2 yang Ditujukan pada Protein Spike (S)³⁸

No	Vaksin	Peneliti	Metode	Fase
1	Parainfluenza virus 5-based vaccine expressing the spike protein	University of Iowa/ University of Georgia	Non replicating viral vector	Preklinik
2	Recombinant deactivated rabies virus containing S1	Bharat Biotech/Thomas Jefferson University		
3	S Protein	WRAIR/USAMRIID	Protein subunit	Preklinik
4	S Protein + adjuvant	National Institute of Infectious Disease Japan		
5	Microneedle array S1 unit	University of Pittsburgh		
6	S protein	AJ Vaccines		
7	S protein	EpiVax/University of Georgia		
8	S protein (baculovirus production)	Sanofi Pasteur/GSK		
9	S1 atau RBD protein	Baylor College of Medicine		

Tabel 4. Kandidat Vaksin SARS-CoV-2 per oral³⁸

No	Vaksin	Peneliti	Motode	Fase
1	Oral Ad5	Stabilitech Biopharma	Non replicating	Preklinik
2	Oral vaccine platform	Vaxart	viral vector	
3	Oral <i>E.coli</i> -based protein expression system of S and N proteins	MIGAL Galilee Research Institute	Protein Subunit	Preklinik
4	Orally delivered, heat stable subunit	Applied Biotechnology Institute Inc		

mulasi sebagai vaksin injeksi. Hanya sedikit peneliti membuat vaksin oral seperti yang tercantum pada Tabel 4.

Lembaga yang Terlibat

Dua raksasa perusahaan vaksin Sanofi dan GSK bekerja sama dengan metode vaksin yang lebih konvensional menggunakan sub unit protein. Antigen S dari SARS-CoV-2 dipasangkan dengan adjuvan yang diharapkan mampu membangkitkan respons imun yang lebih kuat. Uji klinik pada manusia diharapkan dapat dimulai pada semester 2 tahun 2020.²³

Dari semua institusi yang terlibat dalam pengembangan vaksin, 56 (72%) adalah pengembang swasta sedangkan 22 (28%) sisanya dikerjakan oleh akademisi, lembaga publik, dan lembaga non-profit lain. Mayoritas lembaga pengembang vaksin tersebut adalah institusi kecil yang tidak berpengalaman membuat dan memproduksi vaksin dalam jumlah besar.³⁴ Sebanyak 46% institusi berada di benua Amerika, 18% di China, 18% di Asia non-China dan termasuk Australia, dan 18% di Eropa. Seluruhnya ada 19 negara yang terlibat sekalipun tidak ada jaminan keberhasilan.³⁴

Situasi Indonesia

Ada 4 lembaga di Indonesia yang juga meneliti vaksin SARS-CoV-2 yaitu Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Lembaga Eijkmann, Universitas Indonesia, dan Universitas Airlangga. Tiga lembaga berlokasi di Jakarta dan satu di Surabaya. Perusahaan vaksin Indonesia, PT Bio Farma, juga sedang berada dalam proses penelitian vaksin bersama SinoVac sebuah lembaga dari China untuk menjalankan studi fase 2 dan 3 di Indonesia. PT Bio Farma tidak memulai dari awal, guna mempercepat proses penemuan vaksin. Kandidat vaksin yang akan segera diujicobakan adalah vaksin mati (inactivated). Satu perusahaan swasta di Indonesia, PT Kalbe Farma juga bekerja sama dengan Genexine dari Korea Selatan untuk pengembangan vaksin DNA. Empat lembaga Indonesia lain memulai proses dari awal. Sebenarnya masih ada satu lagi lembaga yang juga bekerja sama dengan SinoPharm dari China untuk pengembangan dan uji klinik fase 1 dan 2 salah satu vaksin inactivated lain, tetapi detail dan keterangan lain belum jelas.

Pendekatan yang digunakan oleh lembaga di Indonesia berbeda. Universitas Air-

langga menggunakan vaksin berbasis vektor virus adeno. Potongan gen dari virus SARS-CoV-2 dimasukkan ke dalam fragmen virus adeno untuk kemudian disusupkan ke tubuh manusia. Hingga saat ini di dunia memang belum ada vaksin dengan cara ini, tetapi metode yang sama telah digunakan untuk terapi genetik di beberapa penyakit.^{75,76} Pada penyakit jantung tertentu diperoleh angka keberhasilan yang menggembirakan.⁷⁷ Vaksin SARS-CoV-2 yang menggunakan cara serupa adalah Vaksin Universitas Oxford, serta beberapa kandidat lain yang belum memasuki tahap uji klinik pada manusia.³⁸

Lembaga Eijkmann menggunakan vaksin protein rekombinan. Pengerjaan sedang berlangsung dan diharapkan hasil sudah siap diproduksi pada sekitar Februari 2021. Dari sekuensing genom virus yang telah dilakukan di Lembaga Eijkmann dan Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga diketahui sudah ada virus dengan mutasi di daerah tertentu (data dari www.gisaid.org. Gisaid = global initiative on sharing all influenza data). Sebagian mutasi bahkan terjadi di protein S yang merupakan lokasi favorit yang diprioritaskan untuk pembuatan vaksin. Mutasi akan memperbesar risiko vaksin menjadi tidak efektif, apalagi jika disertai perubahan asam amino. Sebenarnya virus SARS-CoV-2 lebih stabil dari pada virus SARS-CoV yang lama, virus influenza, dan, tentu saja, virus HIV.⁷⁸ Secara teoritis lebih mudah menghasilkan vaksin bagi virus SARS-CoV-2 dibandingkan virus influenza.

Vaksin Corona Universal

Virus SARS-CoV-2 mudah bermutasi seperti influenza. Mutasi ini dapat membatasi efek antibodi, tetapi tidak memengaruhi kemampuan enzimatik virus. Orang dapat kehilangan kekebalan dalam waktu singkat, bahkan terhadap virus yang sama.⁷⁹ Mutasi dapat terjadi pada daerah yang tidak terkonservasi sepanjang waktu.⁸⁰ Mutasi juga terlihat secara invitro pada SARS-CoV yang mendapat tekanan imunologis. Hal yang sama mungkin saja akan dihadapi oleh SARS-CoV-2 menghadapi begitu banyak jenis vaksin yang akan beredar.⁸¹ Daerah yang terkonservasi adalah target utama untuk mengurangi kemungkinan mutasi dan perbedaan respon antibodi. Beberapa antibodi terhadap protein S SARS-CoV belum menampakkan efek yang poten terhadap SARS-CoV-2.^{57,82,83} Sebaliknya beberapa antibodi terhadap SARS-CoV-2 belum menampakkan reaksi silang terhadap protein

SARS-CoV maupun MERS-CoV.⁵⁷ Regio S1 inti RBD ternyata sangat terkonservasi. Antibodi terhadap regio tersebut menunjukkan reaksi silang antar SARS-CoV dan SARS-CoV-2.^{57,84,85}

Kemungkinan SARS-CoV-2 akan menjadi endemis tidak dapat dinihilkan sehingga kebutuhan akan vaksin menjadi lebih panjang. Memperhitungkan mutasi yang akan terjadi tentu menjadi relevan untuk menyiapkan vaksin untuk virus corona yang lebih luas. Sebanyak 3 virus corona yang menjadi pandemi hanya dalam waktu dua dekade sehingga besar kemungkinan masih akan ada pandemi virus corona lain dalam waktu yang tidak terlalu lama.²¹ Vaksin yang spesifik untuk SARS-CoV-2 besar kemungkinan tidak akan melindungi terhadap virus corona lain.^{82,83} Membuat vaksin baru membutuhkan waktu, bahkan dengan teknologi yang terbaru sekalipun. Kesalahan menghentikan kandidat vaksin SARS-CoV yang terjadi di masa lalu sehingga membuat manusia tidak siap menghadapi SARS-CoV-2 seyogianya tidak terulang.²¹ Dari sekian banyak kandidat vaksin yang didata WHO, hanya ada 1 vaksin untuk pan-corona yang berbasis virus adeno dengan peptida yang HLA-matched. Kandidat vaksin ini diinisiasi Valo Therapeutics Ltd dan masih berada pada tahap preklinik.³⁸

Setelah Vaksin Ditemukan

Ada beberapa hal yang akan dihadapi setelah vaksin ditemukan dan antisipasi perlu dipersiapkan sejak awal. Salah satu masalah selanjutnya adalah kemampuan menghasilkan dalam jumlah besar di waktu yang singkat. Terdapat miliaran orang di seluruh dunia yang membutuhkan vaksin tersebut. Apakah akan ada kesamaan hak di antara semua negara? Ataukah prioritas akan diberikan kepada negara maju? Bagaimana bisa vaksin dalam jumlah sangat besar dibuat dalam tempo yang relatif sangat singkat? Bagaimana upaya mengatasi disparitas harga, jika ada? Semua itu adalah sebagian dari pertanyaan yang muncul dalam kaitan dengan vaksin SARS-CoV-2 setelah ditemukan.^{21,46,86-88} Dalam upaya memperpendek waktu tunggu, Amerika Serikat telah memulai proses penyiapan produksi sekalipun fase 3 uji klinik belum dimulai.⁴⁸ Di pihak lain, Universitas Oxford telah bekerja sama dengan Astra Zeneca dan perusahaan vaksin Serum Institute di India untuk menyiagati keperluan produksi dalam jumlah yang sangat besar.²³

Kedua, karena waktu uji klinik yang

relatif lebih pendek, penentuan stabilitas kekebalan untuk jangka panjang baru dapat dilakukan dalam fase 4 atau post-marketing surveillance.⁸⁹ Kohort yang diteliti perlu terus diikuti sampai beberapa tahun. Pada infeksi virus corona lain yang menjadi salah satu penyebab utama selesma pada anak, kekebalan tidak berlangsung lama.⁴⁸

Pada penderita yang berat, kadar antibodi ternyata juga tinggi dan menimbulkan pertanyaan mengenai peran antibodi untuk pencegahan.⁹⁰ Pada umumnya antibodi netralisasi yang tinggi akan menghambat kelanjutan infeksi. Pada penderita infeksi SARS-CoV-2 yang sembuh ternyata hanya sebagian yang dapat mempunyai antibodi netralisasi yang tinggi.⁹¹ Nampaknya antibodi mempunyai peran yang relatif terbatas dalam hal ini.

Gambaran di atas mencerminkan peran antibodi untuk mencegah berlangsungnya penyakit. Dalam konteks pencegahan infeksi, pemberian antibodi netralisasi pada kera besar serta imunisasi pada hewan coba ternyata dapat melemahkan penyakit.^{61,91} Selain untuk kepentingan netralisasi, antibodi juga dapat merekrut komplemen dan reseptor Fc yang ada pada semua sel imun. Kemampuan di luar netralisasi ini kadang justru memperberat proses penyakit sehingga keseimbangan kedua peran menjadi sangat penting.⁶⁰

Ketiga, beberapa efek samping yang sangat jarang juga baru akan diketahui saat fase 4 tersebut.⁸⁹ Untuk vaksin dengan metode baru hal ini akan menjadi lebih penting. Keempat, sebelum pandemi melanda, sebenarnya seluruh dunia sedang mengalami penurunan cakupan imunisasi secara sangat bermakna. Hal tersebut dibarengi dengan menurunnya tingkat kepercayaan masyarakat akan khasiat vaksin.⁹² Efek selanjutnya yang terlihat adalah meningkatnya insidens penyakit yang sebelumnya sudah rendah atau bahkan menghilang. Situasi di negara maju serupa dengan negara berkembang, sekalipun mungkin alasan yang mendasari berbeda. Di Amerika Serikat dan Eropa kasus campak meraja lela kembali.⁹³⁻⁹⁴ Di Filipina, setelah bertahun-tahun tidak pernah lagi mengalami, terjadi wabah difteri, campak, dan polio.⁹⁵

Efek Vaksin Lain terhadap SARS-CoV-2

Selain vaksin spesifik SARS-CoV-2 para ahli juga mempertimbangkan efek non spesifik dari vaksin BCG dan MR/MMR.⁹⁶⁻⁹⁸ Vaksin BCG telah lama diketahui mempunyai efek non spesifik yang memberikan tambahan perlindungan – dalam batas ter-

tentu – untuk penyakit infeksi lain.⁹⁹⁻¹⁰¹ Orang juga berspekulasi dan menilai di negara berkembang kasus SARS-CoV-2 mungkin lebih sedikit, sekalipun gambaran di berbagai negara tidak seragam.¹⁰² Vaksin BCG juga menaikkan imunogenisitas vaksin lain.¹⁰³ Mekanisme BCG di atas dimediasi oleh efek heterologus dari kemampuan imunitas adaptif seperti reaksi silang yang dimediasi sel T serta melalui potensiasi respon imun alamiah.¹⁰⁴ Laporan dari Israel tidak mendapatkan perbedaan signifikan pada kelompok yang menerima vaksin BCG maupun tidak.¹⁰²

Penelitian berskala besar yang menilai efek vaksin BCG terhadap penularan SARS-CoV-2 dilakukan di Melbourne, Australia. Bantuan dana dari Gates Foundation memungkinkan penelitian yang disebut BRACE trial ini diperluas ke Eropa. Hasil akhir diharapkan akan diperoleh tahun 2020 ini juga.¹⁰⁵ Kemampuan vaksin MR/MMR belum diteliti, tetapi spekulasi mengenai efek non spesifik vaksin tersebut telah banyak dipublikasi.^{97,98}

Penutup

Upaya gencar yang dilakukan untuk mendapatkan vaksin pertama yang ampuh terhadap virus SARS-CoV-2 akan semakin intens dalam bulan-bulan mendatang. Kemampuan meneliti dengan segala sumber daya yang ada dewasa ini jauh lebih memudahkan dibandingkan penelitian vaksin pada satu dasawarsa yang lalu. Hal tersebut tentu menggembirakan, apalagi jika diingat belum ada terapi virus SARS-CoV-2 yang memenuhi harapan.

Pada vaksin terkandung harapan besar. Masih ada waktu untuk memikirkan langkah dan jawaban yang adil dan tepat terhadap potensi permasalahan. Sangat diidamkan tersedianya vaksin mujarab tersebut di awal tahun 2021. Keberhasilan mendapatkan vaksin menghadapi pandemi kali ini akan juga merupakan sarana pembelajaran terbaik menghadapi wabah-wabah berikutnya di masa mendatang.

Daftar Pustaka

- Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579:270–3.
- Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med*. 2020;26:450–2.
- Wu F, Zhao S, Yu B, Chan YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory diseases in China. *Nature* 2020; 579: 265–9.
- Worldometer. [cited 2020 June 20]. Available from: <https://www.worldometers.info/coronavirus/>
- Eastman RT, Roth JS, Brimacombe KR, Simeonov A, Shen M, Patnaik S, Hall MD. Remdesivir: A review of Its discovery and development leading to emergency use authorization for treatment of COVID-19. *ACS Cent. Sci*. 2020; 6: 672–83.
- Shukla AM, Shukla AW. Expanding horizons for clinical applications of chloroquine, hydroxychloroquine, and related structural analogues. *Drugs Context*. 2019; 8: 2019–21.
- Cortegiani A, Ingoglia G, Ippolito M, Giarratano A, Einav S. A systematic review on the safety and efficacy of chloroquine for the treatment of Covid-19. *J Crit Care* 2020;57:279–83.
- Gautret P, Lagier JC, Parola P, Hoang VT, Meddeb L, Mailhe M, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of Covid-19: results of an open label non-randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents* 2020;56(1):105949.
- Rabby MII. Current drugs with potential for treatment of COVID-19: A literature review. *J Pharm Pharm Sci*. 2020 (www.cspCanada.org); 23:58–64
- Xu X, Han M, Li T, Sun W, Wang D, Fu B, et al. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. *ChinaXiv*. 2020;117(20):10970–5.
- Mahase E. Covid-19: Low dose steroid cuts death in ventilated patients by one third, trial finds. *BMJ* 2020;369:m2422.
- Veronese N, Demurtas J, Yang L, Tonelli R, Barbagallo M, Lopalco P, et al. Use of corticosteroids in coronavirus disease 2019 pneumonia: A systematic review of the literature. *Front Med*. 2020;7:170.
- Rojas M, Rodríguez Y, Monsalve DM, Acosta-Ampudia Y, Camacho B, Gallo JE, et al. Convalescent plasma in Covid-19: Possible mechanisms of action. *Autoimmunity Rev*. 2020; 19(7):102554.
- Golchin A, Seyedjafari E, Ardeshiryajimi A. Mesenchymal stem cell therapy for COVID-19: Present or future. *Stem Cell Rev Rep*. 2020;16(3):427–33.
- Mao HH, Chao S. Advances in vaccines. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2020; 171:155–88.
- Greenwood B. The contribution of vaccination to global health: past, present and future. *Phil Trans R Soc B*. 2014;369:20130433.
- Bloom DE, Canning D, Weston M. The value of vaccination. *World Economics* 2005; 6(3):15–39
- Schuchat A. Human vaccines and their importance to public health. *Procedia in Vaccinol* 2011;5:120–6.
- Rusnock AA. Historical context and the roots of Jenner's discovery, *Hum Vacc Immunother*. 2016;12(8):2025–8.
- Kaslow DC. Certainty of success: three critical parameters in coronavirus vaccine development. *Npj Vaccines* 2020;5:42.
- Giurgea LTY, Han A, Memoli MJ. Universal coronavirus vaccines: the time to start is now. *Npj Vaccines* 2020;5:43.
- Morens DM, Taubenberger JK. Making universal influenza vaccines: lessons from the 1918 pandemic. *J Infect Dis*. 2019; 219: S5–13.
- Mullard A. COVID-19 vaccine development pipeline gears up. *Lancet*. 2020;395:1751–2.

24. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5:536–44.
25. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of Covid-19: immunity, inflammation, and intervention. *Nat Rev Immunol.* 2020;20:363–74.
26. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in Covid-19 and potential vaccines: lesson learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2020;38:1–9.
27. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol.* 2015;1282:1–23.
28. Zimmermann P, Curtis N. Coronavirus infections in children including COVID-19. *Pediatr Infect Dis J.* 2020; 39(5):355–68.
29. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origin and receptor binding. *Lancet.* 2020;395:565–74.
30. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020;382:1199–207.
31. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Kruger N, Muller M, Drosten C, Pohlmann S. The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells. *BioRxiv* 2020. Preprint.
32. Hotez PJ, Corry DB, Bottazzi ME. Covid-19 vaccine design: the Janus face of immune enhancement. *Nat Rev Immunol.* 2020;20:347–8.
33. Yong CY, Ong HK, Yeap SK, Ho KL, Tan WS. Recent advances in the vaccine development against Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. *Front Microbiol.* 2019;10:1781.
34. Le TT, Andreadakis Z, Kumar A, Roman RG, Tollefsen S, Saville M, Mayhew S. The Covid-19 vaccine development landscape. *Nat Rev.* 2020;19:305–6.
35. Amanat F, Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines: Status report. *Immunity.* 2020;52:583–9.
36. Zhang J, Zeng H, Gu J, Li H, Zheng L, Zou Q. Progress and prospects on vaccine development against SARS-CoV-2. *Vaccines.* 2020;8:153.
37. Callaway E. The race for coronavirus vaccines. *Nature.* 2020;580:576–7.
38. World Health Organization. Draft landscape of Covid-19 candidate vaccines- 2 June 2020. [cited 2020 June 10]. Available from: <https://www.who.int/who-documents-detail/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>
39. Chen WH, Du L, Chag SM, Ma C, Tricoche N, Tao X, et al. Yeast-expressed recombinant protein of the receptor-binding domain in SARS-CoV spike protein with deglycosylated forms as a SARS vaccine candidate. *Hum Vacc Immunother.* 2014;10(3):648–58.
40. Jiang S, Bottazzi ME, Du L, Lustigman S, Tseng CK, Curtis E, et al. Roadmap to developing a recombinant coronavirus S protein receptor-binding domain vaccine for severe acute respiratory syndrome. *Expert Rev Vaccines.* 2012;11(12):1405–13.
41. Coleman CM, Liu YV, Mu H, Taylor JK, Massare M, Flyer DC, et al. Purified coronavirus spike protein nanoparticles induce coronavirus neutralizing antibodies in mice. *Vaccine.* 2014;32(26):3169–74.
42. Chen WH, Chag SM, Poongvanam MV, Biter AB, Ewere EA, Rezende W, et al. Optimization of the production process and characterization of the yeast-expressed SARS-CoV recombinant receptor-binding domain (RBD219-N1), a SARS vaccine candidate. *J Pharm Sci.* 2017;106(8):1961–70.
43. Smith TRF, Patel A, Ramos S, Elwood D, Zhu X, Yan J, et al. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nature Communications.* 2020;11:2601.
44. Anonymous. Editorial: Race for a Covid-19 vaccine. *EbioMed.* 2020;55:102817.
45. Zhu FC, Li YH, Guan XH, Hou LH, Wang WJ, Li JX, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type 5-vectored Covid-19 vaccine: a dose escalation, open label, non-randomized, first-in-human trial. *Lancet.* 2020;395(10240):1845–54.
46. Lee N, McGeer A. The starting line for Covid-19 vaccine development. *Lancet.* 2020;395(10240):1815–6.
47. Chandrashekar A, Liu J, Martinot AJ, McMahan K, Mercado NB, Peter L, et al. SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. *Science* 2020; doi:10.1126/science.abc4776
48. Abbasi J. Anthony Fauci, MD on Covid-19 vaccines, schools, and Larry Kramer. *J Am Med Assoc.* 2020; E1-3.
49. Subbarao K, McAuliffe J, Vogel L, Fahle G, Fischer S, Tatti K, et al. Prior infection and passive transfer of neutralizing antibody prevent replication of severe acute respiratory syndrome coronavirus in the respiratory tract of mice. *J Virol.* 2004;78:3572–7.
50. Zhong X, Yang H, Guo ZF, Sin WYF, Chen W, Xu J, et al. B-cell responses in patients who have recovered from severe acute respiratory syndrome target a dominant site in the S2 domain of the surface spike glycoprotein. *J Virol.* 2005;79:3401–8.
51. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis.* 2020:1–8.
52. Wu F, Wang A, Liu M, Wang Q, Chen J, Xia S. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a Covid-19 recovered patients cohort and their implications. *MedRxiv* 2020. Preprint.
53. Tan YJ, Goh PY, Fielding BC, Shen S, Chou CF, Fu JL, et al. Profile of antibody responses against severe acute respiratory syndrome coronavirus recombinant protein and their potential use as diagnostic markers. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2004; 11: 362–71.
54. Wu HS, Hsieh YC, Su IJ, Lin TH, Chiu SC, Hsu YF, et al. Early detection of antibodies against various structural proteins of the SARS-associated coronavirus in SARS patients. *J Biomed Sci.* 2004; 11: 117–26.
55. Temperton NJ, Chan PK, Simmons G, Zambon MC, Tedder RS, Takeuchi Y, Weiss RA. Longitudinally profiling neutralizing antibody response to SARS coronavirus with pseudotypes. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11: 411–6.
56. Zhu Z, Chakraborti S, He Y, Roberts A, Sheahan T, Xiao X, et al. Potent cross-reactive neutral-

- ization of SARS coronavirus isolates by human monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;1004:12123–8.
57. Tian X, Li C, Huang A, Xia S, Lu S, Shi Z, Lu L, et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus specific human monoclonal antibody. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9:382–5.
 58. Bolles M, Deming D, Long K, Agnihothram S, Whitmore A, Ferris M, et al. A double-inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine provides incomplete protection in mice and induces increased eosinophilic proinflammatory pulmonary response upon challenge. *J Virol*. 2011;85:12201–15.
 59. Jaume M, Yip MS, Cheung CY, Leung HL, Li PH, Kien F, et al. Anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus spike antibodies trigger infection of human immune cells via a pH- and cysteine protease-independent FcγR pathway. *J Virol*. 2011;85:10582–97.
 60. Zohar T, Alter G. Dissecting antibody-mediated protection against SARS-CoV-2. *Nat Rev Immunol*. 2020;20:392–4.
 61. Yasui F, Kohara M, Kitabatake M, Nishiwaki T, Fujii H, Tateno C, et al. Phagocytic cells contribute to the antibody-mediated elimination of pulmonary-infected SARS coronavirus. *Virology*. 2014;454–455:157–68.
 62. Chen WH, Strych U, Hotez PJ, Botazzi ME. The SARS-CoV-2 vaccine pipeline: an overview. *Curr Trop Med Reports*. 2020;7:61–4.
 63. Plotkin SA. The RV144 Thai HIV vaccine trial. *Hum Vacc*. 2010;6(2):157–63.
 64. Gao Q, Bao L, Mao H, Wang L, Xu K, Yang M, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science*. 2020;369(6499):77–81.
 65. Chen WH, Tao X, Agrawal A, Algaissi A, Peng BH, Pollet J, et al. Yeast-expressed SARS-CoV recombinant receptor-binding domain (RBD219N1) formulated with alum induces protective immunity and reduces immune enhancement. *BioRxiv* 2020. Preprint.
 66. Hotez PJ, Corry DB, Strych U, Bottazzi ME. Covid-19 vaccines: neutralizing antibodies and the alum advantage. *Nat Rev Immunol*. 2020;20:399–400.
 67. Van Doremalen N, Lambe T, Spencer A, Beilj-Rammerstorfer, Purushotham JN, Port JR, et al. ChAdOx1 nCoV-19 vaccination prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques. *BioRxiv* 2020. Preprint.
 68. Ghimire TR. The mechanisms of action of vaccines containing aluminium adjuvants: an in vitro versus in vivo paradigm. *Springerplus*. 2015;4:181
 69. Gangurde HH, Gulecha VS, Borkar VS, Mahajan MS, Khandare RA, Mundada AS. Swine Influenza A (H1N1 Virus): A pandemic disease. *Sys Rev Pharm*. 2011;2(2):110–24.
 70. Carlsen B, Glenton C. The swine flu vaccine, public attitudes, and researcher interpretations: a systematic review of qualitative research. *BMC Health Serv Res*. 2016;16:203.
 71. Thomas SJ, L’Azou M, Barrett ADT, Jackson NAC. Fast track Zika vaccine development: is it possible. *N Engl J Med*. 2016;375:1212–6.
 72. Wolosin S, Patel N, Kesselheim AS. False negative tests for SARS-CoV-2 infection – challenges and implications. *N Engl J Med*. 2020. Preprint.
 73. Zhao Y, Zhao Z, Wang Y, Zhou Y, Ma Y, Zuo W. Single-cell RNA expressing profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan 2019-nCoV, *BioRxiv* 2020. Preprint.
 74. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, function, and antigenicity of SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*. 2020;181(2):281–92.
 75. Wold WSM, Toth K. Adenovirus vectors for gene therapy, vaccination and cancer gene therapy. *Curr Gene Ther*. 2013;13(6):421–33.
 76. Lee CS, Bishop ES, Zhang R, Yu X, Farina EM, Yan S, et al. Adenovirus-mediated gene delivery: Potential applications for gene and cell-based therapies in the new era of personalized medicine. *Genes Dis*. 2017;4(2):43–63.
 77. Chamberlain K, Riyad JM, Weber T. Cardiac gene therapy with adeno-associated virus-based vectors. *Curr Opin Cardiol*. 2017. Preprint.
 78. Jia Y, Shen G, Zhang Y, Huang KS, Ho HY, Hor WS, Yang CH. Analysis of the mutation dynamics of SARS-CoV-2 reveals the spread history 1 and emergence of 2 RBD mutant with lower ACE2 binding affinity. *BioRxiv* 2020. Preprint.
 79. Sandbulte MR, Westgeest KB, Gao J, Xu X, Klimov AI, Russell CA, et al. Discordant antigenic drift of neuraminidase and hemagglutinin in H1N1 and H3N3 influenza viruses. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:20748–53.
 80. Ren L, Zhang Y, Li J, Xiao Y, Zhang J, Wang Y, et al. Genetic drift of human coronavirus OC43 spike gene during adaptive evolution. *Sci Rep*. 2015;5:11451.
 81. Sui J, Aird DR, Tamin A, Murakami A, Yan M, Yammanuru A, et al. Broadening of neutralization activity to directly block a dominant antibody driven SARS-coronavirus evolution pathway. *PLOS Pathog*. 2008;4:e1000197.
 82. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020;367:1260–3.
 83. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*. 2020;581:215–20.
 84. Yuan M, Wu NC, Zhu X, Lee CCD, So RTY, Lu H, et al. A highly conserved cryptic epitope in the receptor-binding domains of SARS-CoV-2 and SARS-CoV. *Science*. 2020;368:630–3.
 85. Wang C, Li W, Drabek D, Okba NMA, van Haperen R, Osterhaus ADME, et al. A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun*. 2020;11:2251.
 86. Heininger U. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 vaccines. Setting expectations appropriately. *Pediatr Infect Dis J*. 2020;39(7):e123–4.
 87. Harrison EA, Wu JW. Vaccine confidence in the time of COVID-19. *Eur J Epidemiol*. 2020;35:325–30.
 88. Trogen B, Oshinsky D, Caplan A. Adverse consequences of rushing a SARS-CoV-2 vaccine: implications for public trust. *JAMA*. 2020;323(24):2460–1.
 89. Cashman P, Macartney K, Khandaker G, King C, Gold M, Durrheim DN. Participant-centred active surveillance of adverse events following immunisation: a narrative review. *Int Health*. 2017;9(3):164–76.

90. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with Covid-19. *Nat Med*. 2020;26:845–8.
91. Yu J, Tostanoski LH, Peter L, Mercado NB, McMahan K, Mahrokhian SH, et al. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Science*. 2020;eabc6284
92. Bramer CA, Kimmins LA, Swanson R, Kuo J, Vranesch P, Jacques-Carroll LA, Shen AK. Decline in child vaccination coverage during the COVID-19 pandemic — Michigan Care Improvement Registry, May 2016–May 2020. *Morb Mortal Weekly Rep*. 2020;69(20):630–1
93. Kaic B, Tesovic G. Measles outbreak: a warning sign of troubles ahead. *Croat Med J*. 2019;60:393–6.
94. Said EA, Al-Balushi MS. Measles on the rise. The importance of vaccination. *Sultan Qaboos University Med J*. 2019;19(2):e89–90.
95. Anonymous. Editorial. Infectious disease crisis in the Philippines. *Lancet Infect Dis*. 2018;18: 123.
96. Li Y, Zhao S, Zhuang Z, Cao P, Yang L, He D. The correlation between BCG immunization coverage and the severity of COVID-19. *SSRN Electronic Journal* 2020.
97. Mina MJ. Measles, immune suppression and vaccination: direct and indirect nonspecific vaccine benefits. *J Infect*. 2017;74(Suppl.1):S10–7.
98. Tielemans SMAJ, De Melker HE, Hahne SJM, Boef AGC, van der Klis FRM, Sanders EAM, van der Sande MAB, Knol MJ. Non-specific effects of measles, mumps, and rubella (MMR) vaccination in high income setting: population based cohort study in the Netherlands. *Br Med J*. 2017;358;j3862.
99. Miller A, Reandelar MJ, Fasciglione K, Roumenova V, Li Y, Otazu GH. Correlation between universal BCG vaccination policy and reduced morbidity and mortality for COVID-19: an epidemiological study. *MedRxiv* 2020. Preprint.
100. a MK, Yu Q, Salvador CE, Melani I, Kitayama S. Mandated bacillus Calmette-Guerin (BCG) vaccination predicts flattened curves for the spread of COVID-19. *MedRxiv* 2020. Preprint.
101. Hollm-Delgado MG, Stuart EA, Black RE. Acute lower respiratory tract infection among BCG-vaccinated children. *Pediatrics*. 2014;133(1):e73–81.
102. Hamiel U, Kozler E, Youngster I. SARS-CoV-2 rates in BCG-vaccinated and unvaccinated young adults. *JAMA*. 2020;323(22):2340–1.
103. Leentjens J, Kox M, Stokman R, Gerretsen J, Diavatopoulos DA, van Crevel R, et al. BCG vaccination enhances the immunogenicity of subsequent influenza vaccination in healthy volunteers: a randomized, placebo-controlled pilot study. *J Infect Dis*. 2015;212(12):1930–8.
104. Netea MG, van Crevel R. BCG-induced protection: effects on innate immune memory. *Semin Immunol*. 2014;26(6):512–7.
105. Curtis N, Sparrow A, Ghebreyesus TA, Netea MG. Considering BCG vaccination to reduce the impact of COVID-19. *Lancet*. 2020;395:1545–6.

