

Imunogenitas dan Efikasi Protektif Vaksin Sub sLPS dan Vaksin Strain RB51 pada Menceit (*Mus musculus*) terhadap Infeksi *B. abortus* Isolat Lapang

Saiful Anis

Medik Veteriner Balai Besar Veteriner Maros

Email: saiful.anis@yahoo.co.id

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi imunogenitas dan efikasi protektif *smooth Brucella abortus* lipopolysaccharide (sLPS) sebagai vaksin subunit. Injeksi subkutaneus sLPS dengan adjuvant Al(OH)₃ dan montanide terhadap mencit BALB/c menghasilkan respon imun humoral dan seluler. Mencit yang diinjeksi dengan sLPS menghasilkan antibody yang tidak berbeda secara statistic dibandingkan dengan mencit yang divaksinasi dengan vaksin *B. abortus* RB51, immunoglobulin yang dihasilkan didominasi IgG2b diikuti IgG3, IgG2a dan IgG1. Vaksin subunit sLPS juga menginduksi respon proliferasi sel T ditandai dengan produksi IL-2 dan juga menginduksi produksi interferon gamma, membuktikan adanya induksi respon imun yang dominan terhadap T-helper-1 pada mencit. Vaksin subunit sLPS mampu menginduksi tingkat proteksi terhadap uji tantang menggunakan *B. abortus* virulen yang signifikan; dengan tingkat proteksi dibawah vaksin RB51. Secara keseluruhan, data menunjukkan bahwa vaksin subunit sLPS adalah kandidat vaksin yang cukup baik untuk digunakan dalam penelitian lebih lanjut dalam pengembangan vaksin terhadap brucellosis.

Kata kunci: *Brucella abortus*, sLPS, vaksin subunit, immunoglobulin, unit proteksi.

Immunogenicity and Protective Efficacy of sLPS Sub Unit Vaccine and Strain RB51 Vaccine in Mice (*Mus Musculus*) Against *B. abortus* Field Isolate Infection

Abstract

This study was conducted to evaluate the immunogenicity and protective efficacy of smooth *Brucella abortus* lipopolysaccharide (sLPS) as a subunit vaccine. Subcutaneous injection of sLPS with Al(OH)₃ and montanide as adjuvant into BALB/c mice elicited both humoral and cellular immune responses. Animals injected with sLPS develop antibodies without statistical differences compared to animals vaccinated with *B. abortus* vaccine RB51, which exhibited a dominance of immunoglobulin G2b (IgG2b) over IgG3, IgG2a and IgG1. In addition, the sLPS subunit vaccine induce T-cell-proliferative response characterized by the production IL-2 and also induced the production of gamma interferon, suggesting the induction of a typical T-helper-1-dominated immune response in mice. The sLPS subunit vaccine induced a strong, significant level of protection in BALB/c mice against challenge with *B. abortus* virulent; the protection unit was lower than the one induced by *B. abortus* vaccine RB51. Altogether, these data suggest that the sLPS subunit vaccine is a good candidate for use in future studies of vaccination against brucellosis.

Key words: *Brucella abortus*, sLPS, subunit vaccine, immunoglobulin, protection unit.

Pendahuluan

Brucella merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk *coccobacilli*, bersifat sebagai patogen intraseluler fakultatif baik terhadap manusia maupun hewan. Brucellosis adalah penyakit zoonosis yang sulit didiagnosa dan diobati, sehingga menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar pada sektor peternakan dan dapat menyerang manusia, ditandai oleh *undulan fever* yang apabila tidak dilakukan pengobatan dapat berkembang menjadi infeksi kronis, dengan gejala persisten selama beberapa bulan. Infeksi kronis dapat menimbulkan infeksi pada jaringan sekunder, termasuk jantung dan otak (Cardoso *et al.*, 2006). Manifestasi patologis brucellosis sangat beragam, termasuk arthritis, endokarditis dan meningitis pada manusia, sementara pada hewan brucellosis ditandai dengan abortus dan infertilitas (Lapaque *et al.*, 2005; Cardoso *et al.*, 2006).

Pengendalian brucellosis di daerah endemis dilakukan melalui vaksinasi, untuk meminimalisir kerugian ekonomi yang disebabkan oleh abortus, infertilitas, anak yang lemah dan penurunan produksi susu (Avila-Calderón *et al.*, 2013).

Vaksinasi yang efektif harus dapat memberikan proteksi imunitas jangka panjang pada hewan, mencegah terjadinya abortus, tidak menginterferensi diagnosa serologis, tidak memiliki kemampuan untuk kembali virulen dan tidak pathogen terhadap manusia (Oliviera *et.al.*, 2010; Simborio *et.al.*, 2014).

Vaksin *live attenuated*, seperti *Brucella abortus* S19, RB51 dan *Brucella militensis* Rev1 terbukti dapat memberikan imunitas protektif terhadap infeksi *Brucella* yang diperantarai oleh kedua jenis mekanisme respon imun, baik humoral maupun seluler, terutama *cell mediated immunity* yang memainkan peran kritis dalam proteksi sebagaimana diketahui bahwa *Brucella* merupakan patogen intraseluler, namun demikian terdapat potensi resiko berupa kemungkinan kembali menjadi virulen, menyebabkan abortus pada hewan bunting dan *shedding* bakteri vaksin melalui susu, juga berpotensi berbahaya bagi manusia (Schurig *et*

al., 2002; Perkins *et al.*, 2010; Avila-Calderón *et al.*, 2013; Skendros and Boura, 2013; Jain *et al.*, 2014).

Vaksin subunit memiliki sifat avirulent dan menginduksi proteksi imunitas pada hospes sangat tepat dipakai sebagai sediaan vaksin untuk pemberantasan brucellosis (Avila-Calderón *et al.*, 2013).

LPS bagian terbesar dari struktur *outer membrane* bakteri Gram negative. LPS merupakan *pathogen associated molecular pattern* (PAMP) yang paling banyak diteliti dari *Brucella*. LPS bersifat sebagai imunostimulan sangat berpotensi sebagai kandidat vaksin subunit (Simborio *et.al.*, 2014).

Pengenalan keberadaan LPS oleh sel seperti monosit dan makrofag telah berkembang selama berabad abad memungkinkan hospes mamalia mengenali dengan cepat dan memberikan reaksi terhadap infeksi oleh bakteri Gram negatif. Respon cepat bawaan terhadap LPS ditandai dengan keterlibatan pelepasan mediator proinflamasi, seperti TNF- α , IFN γ , IL-2, IL-6, IL-12 dan IL-1 β , pada lokasi infeksi dengan tingkat moderat yang akan menguntungkan hospes dengan timbulnya inflamasi dan diikuti dengan *priming* sistem imun untuk mengeliminasi organisme penyerang (Cardoso *et al.*, 2006).

Vaksin subunit LPS dengan tingkat kemurnian yang sangat tinggi akan memberikan tingkat keamanan terbaik, namun efektivitas implementasinya sangat terbatas disebabkan rendahnya tingkat imunogenisitasnya, oleh karena itu dibutuhkan adjuvant untuk pada saat digunakan (Demana *et. al.*, 2005; Vangala *et. al.*, 2006; Simborio *et.al.*, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat imunogenitas dan efikasi protektif vaksin subunit smooth *Brucella abortus* lipopolysaccharide (SLPS) dengan dua adjuvant yang berbeda, yaitu Al(OH)₃ dan montanide pada mencit, dengan menggunakan vaksin RB51 sebagai pembanding.

Hasil dari penelitian diharapkan memberikan alternatif sediaan vaksin yang lebih aman dan imunogenik dalam bentuk vaksin subunit LPS.

Materi dan Metode Penelitian

Materi penelitian: isolat isolat lapang *B. abortus* diperoleh dari Balai Besar Veteriner Maros, vaksin RB51, vaksin subunit *Brucella* dengan adjuvant Al(OH)₃ (SLPS Al(OH)₃) dan vaksin subunit *Brucella* dengan adjuvant Montanide (SLPS montanide) diperoleh dari Prof. Suwarno dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, mencit (*Mus musculus*) BALB/C, PBS steril, Elisa Kit Mouse Ig Isotyping Ready-SET-Go![®] catalog number 88-50630, Elisa Kit Mouse IL-2 Platinum ELISA[®] catalog number BMS 601, Elisa Kit Mouse IFN γ Platinum ELISA[®] catalog number BMS606, TMB substrat, 1M phosphoric acid, di ethyl ether, crystal violet 0.05%, hydrogen peroxide 3%, dryslide-oxidase, lead acetate paper, methanol, thionin, thionin blue, safranin O, basic fucshin, sheep Blood Agar, MacConkey Agar, Nutrient Agar, Urea broth/ slope, Serum Dextros Agar *microplate* dan slope, Dextrose Agar Base.

Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data.

28 ekor mencit (*Mus musculus*) dikelompokkan dalam empat kelompok dengan tiap kelompok terdiri atas tujuh ekor mencit.

Kelompok I sebagai kontrol diinjeksi subkutaneus dengan 0,1 ml NaCl fisiologis steril; kelompok II diinjeksi subkutaneus dengan 0,1 ml SLPS Al(OH)₃ (kandungan SLPS 10 μ g); kelompok III diinjeksi subkutaneus dengan 0,1 ml SLPS montanide (kandungan SLPS 10 μ g); dan kelompok IV diinjeksi subkutaneus dengan 0,1 ml vaksin RB51 mengandung 10⁵ CFU (OIE, 2009).

Serum darah diambil pada hari ke 14 pasca vaksinasi untuk mengetahui tingkat sekresi IgG1, IgG2a, IgG2b dan IgG3, produksi IL-2 dan IFN γ . Prosedur anestesi umum dilakukan terlebih dahulu pada mencit sebelum dilakukan pengambilan darah, menggunakan Zoletil[®] dengan dosis 60 mg/kg BB secara *intraperitoneal*.

30 hari pasca vaksinasi dilakukan uji tantang menggunakan *B. abortus* isolat lapang Kabupaten Pinrang, Sulawesi Selatan. Inokulasi uji tantang dilakukan dengan

menginjeksikan suspensi *B. abortus* yang mengandung 2×10^5 organisme sebanyak 0,1 ml secara intra peritoneal. 15 hari pasca ujiantang, mencit dibunuh melalui dislokasi servikal. Organ limpa diambil secara aseptis untuk dilakukan penghitungan koloni (OIE, 2009).

Evaluasi respon imun

Evaluasi *isotype* IgG dalam serum ditentukan menggunakan metode indirect Elisa dengan menggunakan Elisa Kit *Mouse Ig Isotyping Ready-SET-Go!*[®], sedangkan untuk mengevaluasi sekresi IL-2 dan IFN γ dalam serum mencit menggunakan teknik sandwich ELISA dengan kit *Mouse IL-2 Platinum Elisa*[®] dan *Mouse IFN γ Platinum Elisa*. Tiap-tiap pengujian dilakukan sesuai dengan protokol manufaktur.

Evaluasi Tingkat Efikasi Protektif Vaksin terhadap *B. abortus*

Imunogenisitas dan efikasi protektif vaksin diukur melalui kuantifikasi bakteri yang diisolasi pada limpa mencit pasca dilakukan ujiantang. Mencit dibunuh 15 hari setelah ujiantang, limpa diambil secara aseptis, kemudian dimaserasi dan dilarutkan dengan NaCl fisiologis dengan perbandingan 1/10, dari larutan limpa tersebut dilakukan pengenceran pada tingkat 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} . Isolasi dilakukan dengan menginokulasikan 0,2 ml larutan tiap pengenceran pada media *trypticase soy agar* secara duplo, kemudian media diinkubasi pada suhu 37^o C dengan kadar CO₂ 10% selama 3 sampai 7 hari.

Jumlah rata-rata CFU *B. abortus* per limpa kemudian dicatat sebagai X dan kemudian dinyatakan sebagai Y, setelah ditransformasi menggunakan formula: $Y = \log (X/\log X)$. Imunogenitas vaksin dinyatakan dengan rata-rata Y dan standard deviasi (SD), sedangkan efikasi protektif diperoleh dengan jalan melakukan pengurangan rata-rata Y kelompok perlakuan dengan rata-rata Y kelompok kontrol. (OIE, 2009; Grillo *et.al.*, 2012; Al Mariri and Abbady, 2013; Goel *et al.*, 2013; Jain *et al.*, 2014).

Analisis Data

Data eksperimental yang diperoleh dianalisa menggunakan ANOVA *single factor* untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan, kemudian dilanjutkan dengan *Least Significant Different* (OIE, 2009; Grillo *et.al.*, 2012; Jain *et al.*, 2014).

Hasil Penelitian

Respon imun pada mencit

Evaluasi induksi respon imun humoral menggunakan vaksin subunit SLPS *B. abortus* dengan adjuvant Al(OH)₃ (SLPS Al(OH)₃) dan SLPS *B. abortus* dengan adjuvant montanide (SLPS montanide) pada mencit ditentukan berdasarkan nilai optical density (OD) isotype IgG dengan teknik ELISA. Hasil yang didapatkan sesuai dengan yang diharapkan, nilai OD dari IgG1, IgG2a, IgG2b dan IgG3 pada kelompok mencit yang divaksinasi menggunakan vaksin subunit SLPS *B. abortus* dengan adjuvant Al(OH)₃ dan montanide tidak berbeda nyata dengan mencit yang divaksinasi menggunakan vaksin RB51, namun berbeda secara nyata dibandingkan dengan mencit pada kelompok control yang diinjeksi menggunakan saline fisiologis ($p < 0.05$) (tabel 1).

Tabel 1. Nilai OD Elisa antibodi Isotype IgG dalam serum *Mus musculus* 14 hari pasca vaksinasi

Kelompok	Vaksin	Nilai OD Elisa Isotype IgG (rata-rata ± SD)			
		IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG3
1	NaCl fisiologis	0,18 ^a ± 0,07	0,97 ^a ± 0,14 ^a	3,79 ^a ± 0,04	2,77 ^a ± 0,13
2	SLPS Al(OH) ₃	4,61 ^b ± 1,37	32,19 ^b ± 9,46	75,62 ^b ± 2,45	47,45 ^b ± 6,38
3	SLPS Montanide	5,79 ^b ± 1,71	40,09 ^c ± 8,38	75,87 ^b ± 1,28	49,39 ^b ± 1,56
4	RB51	5,85 ^b ± 1,22	30,90 ^b ± 7,73	75,69 ^b ± 2,49	49,31 ^b ± 2,97

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Respon *cell mediated immunity* ditentukan melalui pengujian profil cytokine pada serum mencit yang diimunisasi menggunakan SLPS Al(OH)₃, SLPS montanide dan vaksin RB51. Tingkat sekresi IL-2 pada serum mencit 14 hari pasca vaksinasi ditunjukkan pada tabel 2. Terdapat perbedaan tingkat sekresi IL-2 yang nyata ($p < 0.05$) antara kelompok mencit yang divaksinasi menggunakan SLPS Al(OH)₃ dan SLPS montanide serta vaksin RB51 dengan kelompok control, sedangkan perbedaan antar kelompok perlakuan tidak nyata.

Tabel 2. Kadar IL-2 dalam serum *Mus musculus* 14 hari pasca vaksinasi*

Group	Vaksin	IL-2 serum (rata-rata ± SD)
1	NaCl fisiologis	32,04 ^a ± 8,76
2	SLPS Al(OH) ₃	50,06 ^b ± 12,03
3	SLPS Montanide	51,40 ^b ± 4,20
4	RB51	50,79 ^b ± 8,79

*dinyatakan dalam pg/ml

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Sementara itu, serum mencit yang diimunisasi memiliki kandungan IFN- γ yang lebih tinggi dibandingkan dengan mencit kontrol ($P < 0.05$). mencit yang divaksinasi menggunakan vaksin RB51 menghasilkan sekresi IFN- γ tertinggi (428.28 ± 58.40 pg / ml) diikuti dengan kelompok vaksin subunit LPS dengan adjuvant montanide (315.96 ± 81.50 pg/ml) dan Al(OH)₃ (253.41 ± 36.88 pg/ml). Perbedaan tingkat sekresi IFN γ diantara kelompok perlakuan adalah nyata ($p < 0.05$) (tabel 3).

Tabel 3. Kadar IFN γ dalam serum *Mus musculus* 14 hari pasca vaksinasi*

Group	Vaksin	IFN γ serum (rata-rata ± SD)
1	NaCl fisiologis	117,53 ^a ± 24,00
2	SLPS Al(OH) ₃	253,41 ^b ± 36,88
3	SLPS Montanide	315,96 ^c ± 81,50
4	RB51	428,28 ^d ± 58,40

*dinyatakan dalam pg/ml

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Efikasi protektif

Imunisasi menggunakan vaksin RB51 menghasilkan tingkat efikasi protektif pasca infeksi yang sangat nyata dibandingkan dengan imunisasi menggunakan SLPS Al(OH)₃ dan SLPS montanide ($P < 0.01$). Demikian pula terdapat perbedaan tingkat efikasi protektif yang sangat nyata ($P < 0.01$) antara mencit yang diimunisasi dengan SLPS montanid dengan SLPS Al(OH)₃ (tabel 4).

Tabel 4. Log (CFU/ log CFU) *B. abortus* pada limpa *Mus musculus*

Kelompok	Vaksin	Log (CFU/ log CFU) <i>B. abortus</i> pada limpa (rata-rata \pm SD)	Nilai Unit Proteksi
1	NaCl fisiologis	4,73 ^a \pm 0,01	–
2	SLPS Al(OH) ₃	3,37 ^b \pm 0,01	1,37
3	SLPS Montanide	3,24 ^c \pm 0,03	1,50
4	RB51	2,92 ^d \pm 0,03	1,82

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,01$)

Pembahasan

LPS *B. abortus* sangat berbeda dengan LPS kebanyakan bakteri Gram negatif lainnya, LPS *E. coli* misalnya, selain 10.000 kali lebih lemah tingkat toksisitasnya, LPS *B. abortus* juga 100 kali lebih tidak bersifat *pyrogenic*. LPS *E. coli* tidak memberikan stimulasi respon antibodi spesifik pada mencit strain LPS-*hyporesponsive* C3H/HeJ, sedangkan terhadap mencit strain LPS-*responsive* C3H/HeAu dominan menginduksi produksi antibodi Ig M dan IgG dalam tingkat yang rendah, demikian pula terhadap mencit BALB/c *euthymic* dan *athymic*, hal ini sangat kontras dengan LPS *Brucella* yang memberikan respon antibodi spesifik yang didominasi IgM dan IgG dalam jumlah besar baik pada mencit strain LPS-*hyporesponsive* C3H/HeJ, LPS-*responsive* C3H/HeAu demikian pula terhadap mencit BALB/c *euthymic* dan *athymic* (Kurtz and Berman, 1986; Grilló, 2004).

Hasil evaluasi respon antibody yang ditunjukkan pada penelitian ini adalah kedua jenis vaksin subunit SLPS Al(OH)₃ dan SLPS montanide mampu menghasilkan respon antibodi IgG yang kuat dan setara dengan vaksin RB51, kecuali sekresi IgG2a, dimana SLPS montanide menghasilkan titer yang lebih tinggi. Respon antibodi terhadap SLPS Al(OH)₃, SLPS montanide dan RB51 yang dihasilkan didominasi oleh IgG2. Terdapat dua isotype dari IgG2 yaitu IgG2a dan IgG2b, dimana sekresi keduanya sangat dipengaruhi oleh induksi antigen spesifik (LPS) terhadap sel Th1 yang mengakibatkan aktivasi sel B. Respon imun yang ditandai dengan sekresi IgG2, baik IgG2a atau IgG2b merupakan salah satu bentuk dari respon imun seluler. IgG1 disekresi oleh sel B akibat induksi LPS terhadap sel Th2 sebagai bentuk respon imun humoral (Fernandes *et.al.*, 1996; Golding *et.al* 2001; Schroder 2004; Deenick 2005).

Penggunaan adjuvant yang berbeda pada vaksin SLPS berpengaruh nyata terhadap respon IgG2a, sebagai indicator respon imun seluler, dimana titer pada vaksin SLPS montanide lebih tinggi dibandingkan dengan yang dihasilkan oleh vaksin SLPS Al(OH)₃. Penggunaan adjuvant aluminium terutama bertujuan untuk menghasilkan respon imun humoral yang kuat yang dimediasi dengan disekresikannya antibodi terhadap antigen spesifik. Pada manusia, respon protein terhadap alum dapat terjadi pada sel Th2 dan sel Th1 (Didierlaurent *et al.*, 2009); namun demikian, pada mencit alum lebih cenderung menginduksi sel Th2, dengan sel Th2 *dependent antibody isotypes* (Pellegrino *et.al.*, 2015)..

Montanide merupakan adjuvant dalam bentuk emulsi yang telah digunakan untuk beberapa jenis antigen derivat *Plasmodium falciparum* dan HIV. Montanide tersusun atas *natural metabolizable oil* dan emulsifier dari famili mono-oleat (Kurella *et.al.*, 2000). Montanide menghasilkan sekresi antibody yang kuat, proliferasi sel T dan profil sitokin yang seimbang antara Th1/Th2. Montanide juga diketahui menghasilkan efek depot, merekrut, mengaktivasi

dan menginduksi migrasi dari APC ke kelenjar limfa dan lebih dari itu montanide juga berinteraksi dengan membran sel untuk membantu *uptake* antigen (Mata *et.al.*, 2013).

Beberapa penelitian tentang penggunaan adjuvant montanide dalam vaksin terhadap *Schistosoma* telah dilakukan. Pan *et al.*, melakukan penelitian efek adjuvant terhadap tingkat proteksi oleh antigen Sj26GST (SjGP-3). Hasil yang diperoleh adalah Sj26GST (SjGP-3) yang diformulasikan dengan adjuvant ISA 70M mampu menginduksi respon imun sel Th1 (Xu *et.al.*, 2009).

Sekresi IL-2 merupakan indicator yang dapat digunakan untuk menganalisis respon proliferasi sel Th limfosit terhadap rangsangan antigen spesifik secara tidak langsung (Wyckoff, 2002). Pada penelitian ini tingkat sekresi IL-2 dalam serum *Mus musculus* yang divaksinasi menggunakan ketiga jenis vaksin, SLPS Al(OH)₃, SLPS montanide dan RB51 tidak berbeda secara nyata. Hal ini mengindikasikan adanya potensi yang sama untuk menghasilkan respon imun humoral yang diperantarai sel Th2 maupun respon imun seluler oleh efektor sel Th1 oleh ketiga jenis vaksin ini.

Respon imun Th1 terhadap *Brucella* menyebabkan sekresi IFN γ oleh antigen-specific T lymphocytes. Hampir semua penelitian mengindikasikan bahwa CD4⁺ T lymphocytes adalah penghasil utama IFN γ , meskipun subset sel yang lain misalnya CD8⁺ T lymphocytes, $\gamma\delta$ T lymphocytes dan NK juga menghasilkan IFN γ (Baldwin dan Goenka, 2006). Peran utama sel T dalam imunitas terhadap *Brucella* adalah sekresi IFN γ , untuk mengaktivasi fungsi bakterisidal makrofag dan aktivitas sel T sitotoksik, demikian pula dengan IgG2a dan IgG3 *isotype switching* (Ko and Splitter, 2003; Skendros and Boura, 2013).

Induksi system imun oleh vaksin RB51 menimbulkan respon sekresi IFN γ tertinggi yang berbeda nyata dibandingkan dengan penggunaan vaksin SLPS montanid, SLPS Al(OH)₃ dan kontrol secara berurutan. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yang *et.al.*, 2013.

Tingkat sekresi IFN γ yang dihasilkan oleh perlakuan dalam penelitian ini berkorelasi positif dengan *bacterial clearance* pada limpa mencit, hal ini menunjukkan pentingnya IFN γ untuk mengeliminasi mikroorganisme dari tubuh hospes. Fakta ilmiah ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Pasquali *et.al.* (2001), bahwa mencit yang divaksinasi dengan RB51 terlindungi oleh infeksi *B. abortus* 2308 sejak tiga hari pasca infeksi.

Hasil evaluasi tingkat efikasi protektif vaksin yang dilakukan pada penelitian ini memperkuat teori tentang peran utama imunitas seluler, terutama diperankan oleh IFN γ dalam resistensi terhadap infeksi *B. abortus*. Tingkat sekresi IFN γ berkorelasi positif dengan *bacterial clearance* pada limpa mencit. Terdapat perbedaan yang sangat signifikan tingkat colony forming unit pada limpa mencit pasca uji tantang menggunakan isolate *B. abortus* virulen antara vaksinasi menggunakan RB51, SLPS montanide, SLPS Al(OH)₃ dan kontrol, secara berurutan. Hasil serupa juga dijumpai pada penelitian Pasquali *et.al.* (2001) yang menyatakan responses proteksi yang diinduksi oleh vaksinasi menggunakan vaksin *B. abortus* RB51 lebih didasarkan pada *cell-mediated immunity* dan antibodi memegang peranan minor.

Kesimpulan

Vaksin berbasis SLPS dengan dua adjuvant yang berbeda mampu menginduksi sel B untuk memproduksi titer IgG yang tinggi. Namun demikian walaupun mampu menginduksi sel B untuk memproduksi IgG yang tinggi, efikasi protektifnya tidak sebaik RB51.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini terlaksanan atas pendanaan dari DIPA tahun 2014 Balai Besar Veteriner Maros, Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Suwarno, M.Si atas bantuan vaksin dan fasilitas penelitian.

Daftar Pustaka

- Al-Mariri, A. and A. Q. Abbady. 2013. Evaluation of the immunogenicity and the protective efficacy in mice of a DNA vaccine encoding SP41 from *Brucella melitensis*. *J. Infect. Dev. Ctries.* 7(4):329-337.
- Avila-Calderón, E.D., A. L. Merino, N. Sriranganathan, S. M. Boyle and A. Contreras-Rodríguez. 2013. Review Article: A History of the Development of *Brucella* Vaccines. Hindawi Publishing Corporation. *BioMed. Res. Inter.*
- Cardoso, P. G., G. C. Macedo, V. Azevedo and S. C. Oliveira. 2006. *Brucella spp* noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. *J. Microbial Cell Factories.* 5:13.
- Deenick, E. K., J. Hasbold and P. D. Hodgkin. 2005. Decision Criteria for Resolving Isotype Switching Conflicts by B cells. *Eur. J. Immunol.* 35: 2949–2955.
- Demana, P.H., Davies, N.M., Hook, S., Rades, T., 2005. Quil A-lipid powder formulations releasing ISCOMs and related colloidal structures upon hydration. *J. Control Release* 103: 45–59.
- Didierlaurent, A.M., Morel, S., Lockman, L., Giannini, S.L., Bisteau, M., Carlsen, H., Kielland, A., Vosters, O., Vanderheyde, N. and Schiavetti, F., et al. 2009. AS04. an aluminum salt- and TLR4 agonist-based adjuvant system, induces a transient localized innate immune response leading to enhanced adaptive immunity. *J. Immunol.* 183: 6186–6197.
- Fernandes, D.M., X. Jiang, J. H. Jung, C. L. Baldwin. 1996. Comparison of T cell cytokines in resistant and susceptible mice infected with virulent *Brucella abortus* strain 2308. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 16: 193-203.
- Goel, D., V Rajendranb, P. C. Ghosh and R Bhatnagar. 2013. Cell mediated immune response after challenge in Omp25 liposome immunized mice contributes to protection against virulent *Brucella abortus* 544. *Vaccine* 31: 1231– 1237. www.elsevier.com/locate/vaccine.
- Golding, B., D. E. Scotta, O. Scharf, L. Y. Huang, M. Zaitseva, C. Lapham, N. Ellera and H. Golding. 2001. Immunity and Protection Against *Brucella abortus*. *J. Microb. Infect.* 3: 43-48
- Grilló, M.J., J.M. Blasco, J.P. Gorvel, I. Moriyón and E. Moreno. 2004. What have we learned from brucellosis in the mouse model?. *Veterinary Research.*43: 29. <http://www.veterinaryresearch.org/content/43/1/29>.
- Jain, S., P. Afley, S.K. Dohre, N. Saxena and S. Kumar. 2014. Evaluation of Immunogenicity and Protective Efficacy of Plasmid DNA Vaccine Encoding Ribosomal Protein L9 of *Brucella abortus* in BALB/C Mice. *J. Vacc.* 32: 4537-4542. www.elsevier.com/locate/vaccine.

- Ko, J. and A.G. Splitter. 2003. Molecular Host-Patogen Interaction in Brucellosis: Current Understanding and Future Approaches to Vaccine Development for Mice and Humans. *Clin. Microbiol. Rev.* 16(1): 65–78.
- Kurella, S., M. Manocha, L. Sabhnani, B. Thomas and D. N. Rao. 2000. New Age Adjuvant and Delivery System for Subunit Vaccines. *Indian J. Clin. Bio.* 15(suppl): 83-100.
- Kurtz, R.S. and D.T. Berman. 1986. Influence of Endotoxin-Protein in Immunoglobulin G Isotype Responses of Mice to *Brucella abortus* Lipopolysaccharide. *J. Infect and Immun.* 54(3): 728-734.
- Mata, E.; Salvador, A.; Igartua, M.; Hernandez, R.M.; Pedraz, J.L. 2013. Malaria vaccine adjuvants: Latest update and challenges in preclinical and clinical research. *Biomed. Res. Int.* doi:10.1155/2013/282913.
- OIE. 2009. Bovine Brucellosis. *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. World Organisation for Animal Health Chapter 2.4.3.
- Oliveira, S. C., G. C. Macedo, L. A. de Almeida, F. S. de Oliveira, A. Oñate, J. Cassataro and G. H. Giambartolomei. 2010. Recent Advances in Understanding Immunity Against Brucellosis: Application for Vaccine Development. *The Open Veterinary Science Journal*.4: 102-108
- Pasquali, P., R. Adone, L. C. Gasbarre, C. Pistola and F. Ciuhini. 2001. Mouse Cytokine Profiles Associated with *Brucella abortus* RB51 Vaccination or *B. abortus* 2308 Infection. *J. Infect and Immun.* 69(10): 6541-6544.
- Pellegrino, P., E. Clementi and S. Radice. 2015. Review: On vaccine's adjuvants and autoimmunity: Current evidence and future perspectives. *J. Autoimmun.Rev. Journal* homepage: www.elsevier.com/locate/autrev.
- Perkins, S.D., S.J. Smither and H. and S. Atkins. 2010. Towards a *Brucella* vaccine for humans. *FEMS. Microbiol. Rev.* vol. 34(3): 379–394.
- Petrovsky, N. and J. C. Aguilar. 2004. Vaccine adjuvants: Current state and future trends. *J. Immun. Cell Biolo.* 82: 488–496.
- Schroder, K., P.J. Hertzog, T. Ravasi and D. A. Hume. 2004. Interferon Gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leuko. Biol.* 75.
- Schurig, G.G., N. Sriranganathan and M.J. Corbel. 2002. Brucellosis vaccines: past, present and future. *Vet. Microbiol.* 90: 479-496.
- Simborio, H.L.T., A. W. B. Reyes, H. T. Hop, L. T. Arayan, W. Min, H.J. Lee, H. H. Chang and S. Kim. 2014. Strategies for the development of an effective vaccine against Brucellosis. *J. Prev. Vet. Med.* Vol. 38(2): 53-60. <http://dx.doi.org/10.13041/jpvm.2014.38.2.53>
- Skendros, P. and P. Boura. 2013. Immunity to Brucellosis. *Rev. sci. tech. Off. int.*

- Vangala, A., Kirby, D., Rosenkrands, I., Agger, E.M., Andersen, P., Perrie, Y., 2006. A comparative study of cationic liposome and niosome-based adjuvant systems for protein subunit vaccines: characterisation, environmental scanning electron microscopy and immunisation studies in mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 58: 787-799.
- Xu, X.D.; Zhang, D.M.; Sun, W.; Zhang, Q.F.; Zhang, J.J.; Xue, X.Y.; Shen, L.H.; Pan, W.Q. 2009. A *Schistosoma japonicum* chimeric protein with a novel adjuvant induced a polarized Th1 immune response and protection against liver egg burdens. *BMC Infect. Dis.* doi:10.1186/1471-2334-9-54.