

UJI POTENSI VAKSIN AVIAN INFLUENZA

Nur Khusni Hidayanto, Yati Suryati

Unit Uji Virologi

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, Gunungsindur – Bogor, 16340

ABSTRAK

Telah dilakukan uji potensi terhadap 4 (empat) vaksin *Avian influenza* (AI) yang beredar di Indonesia. Pengujian dilakukan sesuai Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) Jilid 1 Edisi 5 tahun 2018. Vaksin disuntikkan pada ayam *Specific Pathogen Free* (SPF) umur 4 minggu, kemudian 3 minggu pascavaksinasi diambil darahnya untuk diuji hambatan aglutinasi (HI) dan dilakukan ujiantang menggunakan virus AI *A/chicken/Semarang/04141225-07/2014* (clade 2.3.2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksin AI yang diuji menunjukkan titer antibodi yang bervariasi tetapi tetap mampu melindungi dari infeksi virus AI *A/chicken/Semarang/04141225-07/2014*.

Kata kunci: Uji Potensi, Vaksin, Avian Influenza

PENDAHULUAN

Avian influenza (AI) disebabkan oleh virus yang merupakan anggota dari keluarga *Orthomyxoviridae* dan ditempatkan dalam genus virus *influenza A*⁽⁷⁾. *Avian influenza* pertama kali dilaporkan pada tahun 1878 dan dikenal dengan nama *fowl plaque*. Pada simposium *Avian influenza* tahun 1981, nama *fowl plaque* diganti dengan *highly pathogenic avian influenza* (HPAI)⁽⁵⁾.

Avian influenza mempunyai dampak ekonomi yang penting pada industri perunggasan karena menyebabkan mortalitas dan morbiditas yang tinggi, penurunan produksi, dan peningkatan biaya penanggulangan. Di samping itu, virus ini juga bersifat zoonosis sehingga cara penanggulangannya menjadi kompleks dan mahal⁽³⁾. Kerugian ekonomi dari AI bervariasi tergantung pada strain virus, jenis unggas yang terinfeksi, jumlah peternakan yang terinfeksi, metode kontrol yang digunakan dan kecepatan pelaksanaan strategi pengendalian atau eradikasi. Kerugian ekonomi timbul karena kasus epidemi HPAI atau LPAI pada unggas komersil. Secara umum kerugian karena kasus LPAI lebih rendah dibanding HPAI⁽¹¹⁾.

Penentu patogenisitas virus *Influenza* secara molekuler telah diidentifikasi, yaitu sifat dari residu pada *cleavage site* HA, reseptor HA (α -2, 3 atau α -2,6 *sialic acid*), kemampuan NA untuk mengikat plasminogen, perubahan asam amino spesifik dalam PB2 yang mengubah tingkat

sintesis RNA, kehadiran PB1-F2 ORF dan kemampuan PB1-F2 untuk menginduksi apoptosis, dan kemampuan yang berbeda dari NS1 protein untuk melawan sistem *interferon* (IFN)⁽⁴⁾. Protein HA dan NA merupakan antigen yang paling penting untuk produksi respon imun protektif, terutama dalam netralisasi antibodi⁽¹¹⁾.

Virus AI masuk ke hospes melalui saluran pernafasan (inhalasi) atau pencernaan (ingesti). Virus akan bereplikasi pada saluran pernafasan dan pencernaan, kemudian menyebar melalui sistem peredaran darah atau sistem limfatik ke berbagai organ viseral, otak dan kulit. Gejala klinis dan kematian muncul karena kerusakan berbagai organ⁽¹¹⁾.

Wabah *Avian influenza* (AI) di Indonesia telah terjadi sejak pertengahan tahun 2003⁽²⁾. Kasus AI di Indonesia masih terus terjadi dengan frekuensi yang beragam selama tahun 2006-2012. Pada akhir tahun 2012 terjadi kasus AI pada itik di daerah Jawa Tengah, D.I. Yogyakarta dan Jawa Timur yang disebabkan penyakit AI sub tipe H5N1 *clade* 2.3.2⁽¹⁴⁾.

Penyebaran virus AI H5N1 pada unggas di Asia, Timur Tengah dan Afrika telah memicu kekhawatiran pandemi manusia dan mendorong upaya pengembangan vaksin AI H5N1⁽¹⁰⁾. Efikasi vaksin AI H5N1 komersial yang beredar di Indonesia berubah ketika virus AI sub tipe H5N1 di Indonesia berevolusi menjadi *clades* baru, sehingga harus dijamin kesesuaian *seed* vaksin dan virus AI H5N1 di lapangan⁽¹³⁾. Pembaharuan *hemagglutinin* virus AI H5N1 yang lebih dekat secara genetik dengan virus di lapangan mungkin diperlukan untuk perlindungan optimal⁽⁶⁾.

Uji deteksi antibodi banyak digunakan untuk mengevaluasi paparan virus AI pada unggas. Uji deteksi antibodi saat ini meliputi uji ELISA, uji *agar Gel Immuno Diffusion*, dan uji hambatan hemaglutinasi (HI)⁽⁸⁾. Metode serologis HI atau NI merupakan metode *gold standard* untuk mengetahui sub tipe virus meskipun dimungkinkan adanya kesalahan karena variasi antigenik dalam sub tipe atau reaksi silang antar sub tipe⁽⁸⁾. Metode serologis juga perlu dipertimbangkan variasi respon kekebalan antar spesies unggas⁽¹¹⁾. Metode yang digunakan untuk mendeteksi antibodi spesifik pada unggas yaitu uji *Agar Gel Immunodifusion* (AGID) dan uji *Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay* (ELISA)⁽⁹⁾.

Penelitian ini untuk mengetahui hubungan titer antibodi pascavaksinasi dan hasil uji tantang pada uji potensi vaksin AI.

MATERI DAN METODE

Materi

Pada penelitian ini digunakan 4 (empat) vaksin inaktif *Avian influenza* sub tipe H5N1 *clade* 2.3.2 yang diproduksi oleh 4 (empat) produsen yang berbeda dan ayam SPF umur 4 minggu. Virus tantang yang digunakan yaitu virus AI *A/chicken/Semarang/04141225-07/2014*, sedangkan antigen AI yang dipakai yaitu antigen AI H5 *clade* 2.3.2 produksi Pusvetma. Uji *shedding virus* menggunakan telur SPF umur 10 hari.

Metode

Uji potensi dilakukan sesuai metode uji potensi AI FOHI Biologik Jilid I Edisi 5 Tahun 2018. Sepuluh ekor ayam SPF umur 28 hari divaksinasi masing-masing 1 dosis secara *intra muscular* (IM). Sepuluh ekor ayam SPF lainnya tidak divaksinasi digunakan sebagai kelompok kontrol. Tiga minggu pascavaksinasi atau sebelum uji tantang dilakukan pengambilan serum untuk dilakukan uji hambatan aglutinasi (HI) menggunakan metode OIE⁽⁷⁾. Semua ayam ditantang dengan virus AI *A/chicken/Semarang/04141225-07/2014* masing-masing 0.1 mL $10^{6.0}$ EID₅₀ secara IM. Pengujian dilakukan di fasilitas *Biosafety Level 3* (BSL-3) / *Animal Biosafety Level 4* (ABSL-4) di Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan.

Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila tidak kurang dari 90% ayam kelompok vaksinasi tidak menunjukkan gejala klinis penyakit AI dan tidak kurang 90% ayam kelompok kontrol mati dengan menunjukkan gejala klinis penyakit AI serta tidak terjadi *shedding virus* setelah hari ke-7 pascatantang virus AI.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian vaksin *Avian influenza* di BBPMSOH menggunakan metode sesuai FOHI 2018. Ayam SPF divaksin 1 dosis secara intramuskular. Tiga minggu pascavaksinasi ayam diambil darahnya dan ditantang dengan virus AI *A/chicken/Semarang/04141225-07/2014*. Pada hari kedelapan pascatantang ayam diambil *swab* dari *oropharynx* dan *cloaca*. Penggunaan virus AI *A/chicken/Semarang/04141225-07/2014* sebagai virus tantang sesuai surat Direktur Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan No. 22017/PK.350/F/06/2018 tentang Perubahan StrainTantang Vaksin AI H5N1 dan Penetapan Master Seed Vaksin AI H9N2.

Tabel 1. Hasil uji potensi vaksin *Avian influenza*

No	Kode Vaksin	Jenis Vaksin	Hasil Uji		
			Rata-Rata Titer Antibodi Pre Tantang (log 2)	Uji Potensi Terhadap AI	Uji <i>Shedding</i> Virus
1	A	AI H5 + H9	8	100%	100% Negatif
2	B	AI H5 + ND	4	100%	100% Negatif
3	C	AI H5 + ND	44	100%	100% Negatif
4	D	AI H5 + ND	18,4	100%	100% Negatif

Hasil pengujian menunjukkan bahwa vaksin AI mempunyai titer antibodi pratantang yang bervariasi dari 4–44 tetapi mampu melindungi dari infeksi virus AI *A/chicken/Semarang/04141225-07/2014* (Table 1). Hal ini sesuai dengan penelitian ⁽¹⁾ yang menyatakan bahwa meskipun respon antibodi terhadap H5 rendah, unggas yang divaksinasi tetap terlindungi dari tantangan HPAI. Menurut⁽¹¹⁾ kekebalan yang protektif dikaitkan dengan antibody terhadap protein HA, tetapi antibodi terhadap terhadap HA, NA atau keduanya mencegah gejala klinis dan kematian setelah ditantang dengan virus HPAI dengan sub tipe HA atau NA yang homolog.

Respon imun humoral pada unggas pada infeksi alami kemungkinan besar memproduksi antibodi sistemik dan mukosa. Respon antibodi sistemik pada ayam dan kalkun mirip dengan spesies lain dengan produksi IgM yang terbentuk paling cepat 5 hari pasca infeksi dan IgY terdeteksi segera setelahnya. Antibodi yang diproduksi hospes ditargetkan terhadap berbagai protein virus influenza yang penting untuk perlindungan dari penyakit dan untuk diagnosis infeksi. Virus influenza menghasilkan 10 protein virus yang dapat dibagi menjadi tiga kategori utama: protein permukaan, protein internal, dan protein non struktural yang tidak dikemas dalam partikel virus. Partikel virus mengandung tiga protein permukaan: protein HA, neuraminidase (NA), dan matriks 2 (M2). Protein internal meliputi tiga protein polimerase, PA, PB1, dan PB2, nukleoprotein, matriks 1 (M1), dan protein nonstruktural 2 (NS2). Protein nonstruktural 1 (NS1) adalah satu-satunya protein yang tidak dikemas ke dalam partikel virus, meskipun di produksi dalam jumlah besar dalam sel yang terinfeksi ⁽⁹⁾.

KESIMPULAN

Hasil uji terhadap 4 (empat) vaksin AI subtype H5N1 *clade* 2.3.2 menunjukkan bahwa protektivitas suatu vaksin tidak hanya ditentukan oleh satu antibodi terhadap H5 yang terbentuk. Pengujian uji potensi vaksin AI *High Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) harus menggunakan metode tantang terhadap virus AI.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Chua T., Leung C. Y. H., Fang H. E., Chow C., Ma S., Sia S., Ng I. H. Y., Fenwick G. S., James C. M., Chua S. B., Chew S. T. and Kwang J.** 2010. *Evaluation of a Subunit H5 Vaccine and an Inactivated H5N2 Avian Influenza Marker Vaccine in Ducks Challenged with Vietnamese H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus*. Influenza Research and Treatment. Article ID 489213. doi:10.1155/2010/489213
2. **Damayanti R., Dharmayanti N.L.P.I., Indriani R., Wiyono A. dan Darminto.** 2004. Deteksi Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 pada Organ Ayam yang Terserang Flu Burung Sangat Patogenik di Jawa Timur dan Jawa Barat dengan Teknik Imunohistokimia. *JITV*9(3):197-203
3. **Dharmayanti N.L.P.I., Diwyanto K. dan Bahri S.** 2012. Mewaspadai Perkembangan Avian Influenza (AI) dan Keragaman Genetik Virus AI/H5N1 di Indonesia. *Pengembangan Inovasi Pertanian* 5(2):124-141.
4. **Jackson D., Hossain M.J., Hickman D., Perez D.R. and Lamb R.A.** 2008. *A New Influenza Virus Virulence Determinant: The NS1 Protein Four C-Terminal Residues Modulate Pathogenicity*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(11):4381-4386.
5. **Johnson D.C.** 1981. *Avian Influenza*. *A.A.V. Newsletter*. 2(2): 3
6. **Kapczynski D.R., Pantin-Jackwood M.J., Spackman E., Chrzastek K., Suarez D.L. and Swayne D.E.** 2017. *Homologous and heterologous antigenic matched vaccines containing different H5 hemagglutinins provide variable protection of chickens from the 2014 U.S. H5N8 and H5N2 clade 2.3.4.4 Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses*. *Vaccines* 35:6345-6353.
7. **OIE.** 2012. *Avian Influenza*. OIE Terrestrial Manual. Chapter 2 . 3 . 4 .
8. **Spackman E.** 2007. *Avian Influenza Virus*. Humana Press.
9. **Suarez D.L. and Schultz-Cherry S.** 2000. *Immunology of Avian influenza virus: a review. Developmental and Comparative Immunology*. 24:269-283.
10. **Steel J.** 2011. *New strategies for the development of H5N1 subtype influenza vaccines: progress and challenges*. *Bio Drugs*, 25(5):285-298.

11. **Swayne D.E. and Halvorson D.A.** 2008. *Influenza*. Disease of Poultry 12th Edition. Blackwell Publishing. 153-183.
12. **Tian G., Zhang S., Li Y., Bu Z., Liu P., Li C., Shi J., Yu K. dan Chen H.** 2005. *Protective efficacy in chickens, geese and ducks of an H5N1-inactivated vaccine developed by reverse genetics*. Virology 341:153-162.
13. **Villanueva-Cabezas J.P., Coppo M.J.C., Durr P.A. and McVernon J.** 2017. *Vaccine efficacy against Indonesian Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1: systematic review and meta-analysis*. Vaccines, Volume 35:4859-4869.
14. **Wibawa H., Prijono W.B., Dharmayanti N.L.P.I., Irianingsih S.H., Miswati Y., Rohmah A., Andesya E., Romlah, Daulay R.S.D., dan Safitri K.** 2012. Investigasi wabah penyakit pada itik di Jawa Tengah, Yogyakarta dan Jawa Timur : Identifikasi sebuah clade baru virus Avian Influenza subtype H5N1 di Indonesia. *Buletin Laboratorium Veteriner BBVet Wates*. 12(4):2-9.