

# PENCEGAHAN PENYAKIT VIRUS PADA HEWAN DENGAN VAKSIN MUKOSAL

SUDARISMAN

Balai Penelitian Veteriner, Jl. R.E. Martadinata No. 30, Bogor 16114

## ABSTRAK

Masalah utama dalam pengendalian penyakit viral pada hewan infeksius adalah kurang tersedianya vaksin yang efektif. Sejumlah besar virus patogen ditularkan melalui mukosa dan harus menembus halangan mukosa untuk menginfeksi induk semangnya. Permukaan mukosa dari saluran pencernaan dan pernafasan merupakan pintu masuk pada kebanyakan virus patogen. Vaksin virus inaktif yang sekarang digunakan secara intra muskuler terutama menimbulkan *circulating antibodies*. Pertahanan yang paling baik terhadap agen penyakit yang terutama masuk melalui mukosa adalah penggunaan vaksin yang mampu menimbulkan antibodi secara sistemik maupun pada mukosa, dan hal ini merupakan cara pencegahan penyakit yang ekonomis. Untuk kebanyakan virus patogen, induksi kekebalan mukosa sangat baik digunakan didasarkan rute infeksi. Keefektifan pemberian vaksin pada permukaan mukosa termasuk pemberian ke saluran pernafasan dapat merupakan cara pencegahan yang sangat berguna bagi saluran nafas bagian atas yang *secretory antibody*-nya berperan untuk perlindungan terhadap infeksi virus. Pada umumnya, permukaan luar mukosa dipenuhi oleh folikel yang terorganisir, elemen limfoid yang tersebar dan bersifat antigen reaktif, termasuk sel B, limfosit T, sel T, sel plasma dan berbagai elemen seluler yang terlibat dalam induksi dan terjadinya respon kekebalan. Jadi, pengertian yang lebih baik tentang sistem kekebalan mukosa akan diperlukan sebelum dilakukan pengembangan vaksin mukosa yang efektif.

**Kata kunci:** Penyakit virus, vaksin mukosal

## ABSTRACT

### MUCOSAL VACCINE FOR PREVENTION OF VIRAL DISEASE IN ANIMAL

The major obstacle in combating infectious viral diseases in animals is the lack of effective vaccines. A large number of viral pathogens are mucosally transmitted and must cross mucosal barriers to infect the host. The mucosal surfaces of the gastrointestinal and respiratory tracts represent the principal portals of entry for most animal viral pathogens. Current inactivated viral vaccines administered by intramuscular injection elicit primarily circulating antibodies. The best defense against these predominantly mucosal viral pathogens would be vaccines capable inducing both systemic and mucosal immunity which is a cost effective disease prevention tool. For most viral pathogens, induction of mucosal immunity appears most appropriate based on the routes of infection. The effectiveness of vaccine delivery to mucosal surfaces including respiratory tract may be most useful for prevention of the upper ways where secretory antibody is most important for protection against viral infection. Most external mucosal surfaces are replete with organized follicles and scattered antigen-reactive or sensitized lymphoid elements, including B cells, T lymphocytes, T cell subsets, plasma cells and a variety of other cellular elements involved in the induction and maintenance of immune response. Thus, a better understanding of the mucosal immune system is needed before effective mucosal vaccines can be developed.

**Key words:** Viral disease, mucosal vaccine

## PENDAHULUAN

Pencegahan penyakit virus pada hewan merupakan suatu hal yang penting karena penyakit yang disebabkan oleh virus tidak dapat diobati dengan antibiotik. Adanya beberapa faktor yang menimbulkan stres seperti faktor lingkungan atau biosekuriti yang tidak baik akan dapat memudahkan masuknya agen penyakit virus seperti influenza. Peningkatan jumlah populasi hewan yang terinfeksi, *virus shedding* yang tidak terkendalikan pada akhirnya dapat menjurus pada kejadian wabah penyakit yang sangat merugikan.

Sebagian besar agen/virus patogen dapat masuk melalui mukosa dan penyakitnya dapat ditularkan melalui sekresi mukosa. Membran mukosa hewan merupakan permukaan yang luas dan berbatasan dengan dunia luar. Permukaan mukosa dapat ditemukan pada saluran pencernaan, urogenital dan pernafasan hewan. Untuk melindungi hewan terhadap masuknya virus patogen yang berbahaya, diperlukan pertahanan di seluruh mukosa yang mekanismenya cukup rumit. Pertahanan terbaik terhadap agen penyakit virus yang dapat masuk melalui mukosa adalah vaksin mukosal (*mucosal vaccines*) yang

mampu menginduksi kekebalan sistemik dan mukosa (VAN GINKEL *et al.*, 2000).

Pertahanan mukosa terhadap agen virus patogen terdiri atas pertahanan alami (seperti lendir, epitelium), mekanisme pertahanan alami dan kekebalan adaptif dari induk semang. Sedangkan kekebalan pada permukaan mukosa terutama terdiri atas CD4+ sel T, *secretory* Immunoglobulin A (S-IgA), dan T *lymphocytes* yang bersifat antigen spesifik sitotoksik atau *cytotoxic T lymphocytes* (CTLs) (VAN GINKEL *et al.*, 2000). Usaha penelitian untuk menginduksi kekebalan protektif mukosa terhadap virus influenza telah menunjukkan kemajuan yang pesat. Kekebalan mukosa merupakan hal penting bagi proteksi keseluruhan, yaitu dimulai dengan membentuk garis pertahanan awal terhadap agen penyakit yang masuk melalui mukosa seperti influenza.

Telah banyak strategi yang digunakan untuk menginduksi respon kekebalan mukosa, antara lain adalah penggunaan vektor hidup atenuasi (*live attenuated live vectors*) seperti yang telah banyak digunakan pada vaksin mukosal untuk penyakit *Newcastle Disease* dan penyakit yang disebabkan adenovirus. Demikian juga penggunaan vaksin mukosal inaktif untuk penyakit influenza (CHEN *et al.*, 2001). Keefektifan penggunaan vaksin mukosal untuk pencegahan penyakit virus tertentu telah lama diketahui. Pada saat ini, evaluasi tentang daya proteksi vaksin mukosal, khususnya untuk penyakit infeksius seperti yang disebabkan oleh virus influenza masih terus dilakukan (NGUYEN *et al.*, 2000, TUMPEY *et al.*, 2001). Cara vaksinasi ini kemungkinan sangat berguna untuk pencegahan masuknya penyakit melalui saluran pernafasan, yaitu pada saat *secretory antibody* merupakan hal terpenting untuk perlindungan terhadap infeksi virus.

Pada tulisan ini akan dibahas sistem kekebalan pada mukosa, peranan vaksin mukosal yang menimbulkan antibodi atau kekebalan, dan hasil penelitian yang telah dan akan dicapai untuk mengembangkan vaksin mukosal yang efektif dan protektif.

## SISTEM KEKEBALAN UMUM DARI MUKOSA

Permukaan mukosa dilindungi oleh sistem kekebalan lokal yang berfungsi terpisah dari sistem kekebalan sistemik. Mekanisme pertahanan mukosa tersebut terdiri atas rintangan fisik dan seluler, termasuk garis epitel dan hubungannya dengan lapisan lendir mukosa, juga *mucosal associated lymphoid tissue* (MALT). Gambaran umum histologi dari rintangan mukosa adalah sama di dalam berbagai jaringan mukosa, tetapi ada kekhususan sesuai lokasi anatomi jaringan dan fungsi fisiologisnya (BAR-SHIRA dan FRIEDMAN, 2005).

Pada prinsipnya, struktur jaringan kerja imunologik pada permukaan mukosa bagian luar (MALT) terdiri atas *gut associated lymphoid tissue* (GALT), *bronchus associated lymphoid tissue* (BALT), *nasopharyngeal lymphoid tissue* (NALT), *larynx lymphoid tissue* (LALT), dan *genitourinary lymphoid tissue* (GULT) (OGRA *et al.*, 2001; BAR-SHIRA dan FRIEDMAN, 2005).

Pada mamalia, tempat induktif dari sistem kekebalan mukosa adalah folikel limfoid dalam: NALT, tonsil, BALT, GALT, jaringan limfoepitelial rektal dan sel B peritoneal. Sedangkan tempat efekturnya adalah sel limfoid dalam lamina propria dari: kelenjar ludah, jaringan okuler, konjungtiva, mukosa bronkhial, mukosa gastrointestinal, saluran urogenital, kelenjar mammae, dan mukosa telinga tengah (OGRA *et al.*, 2001).

Pada ayam, *head associated lymphoid tissue* dari Harderian *gland* dan konjungtiva termasuk ke dalam MALT. Harderian *gland* pada unggas dinyatakan sebagai organ limfoid perifer yang berperan dalam pertahanan/kekebalan dari daerah *paraocular* selain fungsi utamanya untuk menghasilkan air mata (OHSHIMA dan HIRAMATSU, 2002).

GALT yang merupakan komponen utama dari MALT terdiri dari organ dengan infrastruktur rumit serta sel-sel imun yang terletak di dalam lapisan epitel dan di bawah lamina propria. GALT terdiri dari beberapa tipe sel termasuk penginduksi khusus, imunoregulator dan sel efektor yang berbeda dari pendampingnya di dalam sistem imun/kekebalan sistemik (BAR-SHIRA dan FRIEDMAN, 2005).

Pada hewan unggas yang sama sekali tidak memiliki limfonodula seperti pada mamalia, GALT dan limpa merupakan tempat utama untuk timbulnya dan induksi respon imun. Jadi, pengamatan perkembangan GALT dan pematangan fungsinya merupakan dasar untuk mengerti fenomena imunologis dari unggas seperti respon terhadap antigen protein terlarut yang diberikan per oral atau adanya induksi toleransi pada ayam umur muda (KLIPPER *et al.*, 2001). Pengetahuan tentang hal ini akan berguna untuk pengembangan atau perbaikan vaksin hewan yang telah ada.

Stimulasi kekebalan mukosa telah diketahui terjadi pada agregat khusus jaringan limfoid, yang berhubungan secara kolektif sebagai *bronchus and gut associated lymphoid tissue* (BALT dan GALT). Gambaran menarik dari daerah BALT dan GALT adalah kemampuannya mengkomunikasikan informasi imunologik yang timbul pada suatu permukaan mukosa kepada permukaan mukosa lainnya di dalam tubuh, jadi stimulasi *IgA precursor B cells* dalam *Peyer's patches* dapat disebarkan ke lamina propria dari usus, saluran pernafasan dan saluran urogenital. Gambaran sistem kekebalan mukosa menimbulkan pernyataan bahwa

vaksin intranasal atau per oral, yang mudah cara aplikasinya dapat sangat efektif untuk menimbulkan antibodi di seluruh daerah sistem kekebalan mukosa. Tetapi pada umumnya, kebanyakan antigen memperlihatkan respon kekebalan mukosa yang singkat dan kurang kuat. Jadi strategi imunisasi diperlukan untuk imunisasi mukosa dengan antigen protektif (MILLER, 2004).

### PERANAN IMUNOGLOBULIN A (IgA) DALAM KEKEBALAN TERHADAP PENYAKIT

Antibodi dalam sekresi mukosa dianggap mempunyai 2 aktivitas utama terhadap virus patogen. Aktivitas pertama yaitu *immune exclusion*, yang dapat mencegah virus untuk mencapai sel target induk semang dan aktivitas kedua yaitu netralisasi langsung dari daya infeksi virus. *Immune exclusion* adalah pertahanan yang dibuat secara hipotetik terhadap adanya infeksi yang mengkombinasikan aktivitas antibodi dan selimut lendir yang menutupi epitelium dari saluran pernafasan (MC NABB dan TOMASI, 1981). Lendir akan memberikan pertahanan fisik yang membatasi masuknya virus ke sel epitelium. Adanya antibodi yang sesuai dan mampu mengaglutinasi partikel virus, kemudian akan menurunkan kemampuan virus untuk menembus lendir. Jika virus telah terperangkap dalam lendir, partikel virus akan dapat dibersihkan dari saluran pernafasan karena adanya aktivitas bulu getar (*cilia*) yang menggerakkan lendir tadi ke bagian *nasopharynx* (WELTZIN dan MONATH, 1999). *Immune exclusion* ini dianggap paling penting karena dapat mencegah virus untuk memulai infeksi. Selain itu, dapat juga menolong pencegahan dalam penyebaran infeksi dalam saluran pernafasan melalui sekresinya.

Netralisasi virus akan terjadi jika ada pengikatan antara antibodi dan virus, sehingga mencegah virus mencapai sel target dengan cara mencegah interaksi dari ikatan permukaan virus dengan sel reseptor atau menghalangi internalisasi atau pelepasan secara intraseluler. Netralisasi virus digambarkan secara *in vitro* dengan menggunakan sel kultur, tetapi proses ini mungkin cukup sulit untuk menggantikan aktivitas protektif antibodi secara *in vivo*. Antibodi yang menetralkan dapat membatasi infeksi virus awal serta dapat juga menjadi penting untuk eliminasi dari infeksi yang sudah ada. Jika sel telah terinfeksi, mediator kekebalan lainnya, termasuk imunitas bawaan yang diturunkan, antibodi spesifik dalam cairan serosa, *antibody dependent cellular cytotoxicity* dan *cytotoxic T cells* dapat ikut berperan dalam pembersihan virus. Infeksi juga dapat menyebabkan hilangnya integritas pertahanan epitelium, dan membiarkan limfosit dan antibodi sistemik untuk mencapai permukaan mukosa (WELTZIN dan MONATH, 1999).

Dalam sekresi saluran pernafasan bagian atas, isotype antibodi yang dapat ditemukan adalah imunoglobulin A (IgA). Adanya antibodi ini berhubungan dengan daya tahan terhadap sejumlah virus-virus yang dapat menyerang saluran pernafasan, termasuk virus influenza. IgA diproduksi dalam bentuk monomerik dan polimerik, dengan bentuk dasarnya merupakan dimerik (WETZIN *et al.*, 1989). Polimer IgA terikat pada reseptor basolateral spesifik pada sel epitel dan kemudian di endositosis, ditransportasikan ke ujung permukaan sel, dan dibebaskan ke dalam sekresi mukosa. IgA yang ditransportasikan tetap berhubungan dengan bagian dari reseptor selular, yang disebut komponen sekretori yang melindungi molekul IgA terhadap pemecahan proteolitik. Proses transpor ini merupakan prinsip dasar tentang cara antibodi mencapai sekresi saluran pernafasan atas. Dalam sekresi saluran nafas yang lebih bawah, IgA dan IgG terdapat dalam jumlah besar.

Pada hewan, juga dapat dilihat tingginya prevalensi IgA dalam sekresi saluran pernafasan. Dalam hal perlindungan pada saluran pernafasan, IgG kelihatannya kurang berperan dibandingkan dengan IgA. Karena berbentuk polimerik, IgA secara teori mempunyai beberapa keuntungan seperti dapat berperan lebih baik dalam mengaglutinasi antigen dibandingkan dengan IgG yang monomerik, yang kemudian dapat memfasilitasi *immune exclusion*. IgA kurang berperan dalam proses peradangan, karena tidak memfiksasi komplemen secara efisien. IgA mempunyai waktu aktivitas yang lebih lama akibat proteksi terhadap proteolisis yang dimediasi *secretory component*. Mekanisme netralisasi virus oleh IgA dan IgG dapat berbeda dalam beberapa hal. Secara *in vitro*, IgA dan IgG ditemukan mengganggu infeksi virus influenza pada tahap awal, menghambat pengikatan dan penetrasi sel target. IgG dan monomerik IgA (diproduksi dengan mereduksi *secretory IgA*) mengganggu replikasi virus pada tahap berikutnya.

Pada ayam, sejumlah besar sel plasma terdapat dalam interstitial stroma kelenjar Harderian dan jumlahnya tergantung pada umur ayam tersebut. Kelas imunoglobulin (Ig) utama yang dihasilkan Harderian *gland* ayam kemungkinan akan sesuai dengan gambaran sekretoris dari organ ini. OLAH *et al.* (1992) menyatakan bahwa pada umur ayam delapan sampai 10 minggu, banyak ditemukan IgM dan IgA tetapi hanya sedikit IgG.

### INDUKSI KEKEBALAN DI JARINGAN LIMFOID MUKOSA

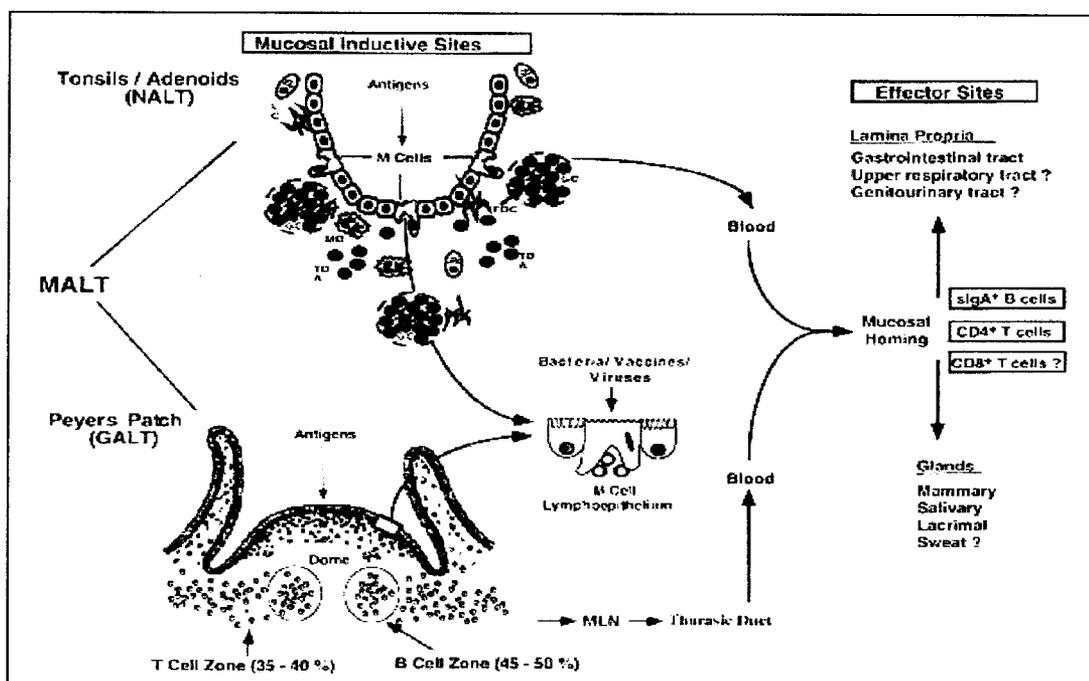
Pada umumnya vaksin diberikan secara parenteral untuk dapat menstimulasi respon antibodi humoral dan *cell-mediated immunity*. Pentingnya peranan *secretory immunity* telah diketahui, dan juga telah disadari bahwa

respon mukosa yang cukup kuat akan didapat jika antigen langsung ditempatkan pada permukaan mukosa (MC GHEE dan KIYONO, 1993). Pemberian antigen secara *per oral*, *intranasal*, *per rectal* dan *intra vaginal* sangat efektif untuk menginduksi respon kekebalan mukosa dan respon kekebalan sistemik. Khususnya cara pemberian antigen secara intranasal telah dinyatakan sangat efektif untuk menginduksi kekebalan mukosa dan sistemik (HIBAYASHI *et al.*, 1990; WALKER, 1994; WELTZIN dan MONATH, 1999).

Pengertian kekebalan mukosa telah dipelajari dengan melakukan berbagai penelitian. Induksi kekebalan mukosa dimulai ketika antigen kontak atau berhubungan dengan sel limfoid dalam atau di bawah epitelium (MAYHOFER, 1994). Hal ini dapat terjadi ketika virus menginfeksi dan membunuh sel epitel, tetapi antigen dapat menyeberangi epitel *intact* melalui sel epitel khusus untuk membawa antigen (*specialized antigen – transporting epithelial cells*) yang disebut sel M (*microfold*) (Gambar 1). Sel-sel M ini terlibat dalam proses pengambilan, transportasi, memproses, dan presentasi antigen mikroba (NEUTRA *et al.*, 1996). Interaksi sel epitel dengan limfosit T dan B

menginduksi sel epitel untuk berdiferensiasi menjadi sel-sel M secara *in vitro*. Hal ini menunjukkan pentingnya interaksi sel limfosit dan epitel untuk keberadaan sel-sel M dalam folikel yang berhubungan dengan epitel dari *Peyer's patches*. Dalam saluran pencernaan, sel M dihubungkan dengan folikel limfoid dalam usus halus, kolon dan rektum. Sel serupa ditemukan di atas folikel limfoid di saluran pernafasan. Antigen yang menyeberangi epitel kemudian akan diproses dalam jaringan limfoid mukosa, yang akhirnya menuju pada pembuatan *activated B lymphoblast*, yang mengambil tempat pada mukosa dan menjadi *IgA secreting plasma cells*. Ternyata kebanyakan IgA polimerik ditransportasikan ke dalam sekresi dan dihasilkan secara lokal oleh sel plasma subepitelial (MC NABB dan TOMASI, 1981).

Dalam saluran pernafasan bagian bawah, folikel limfoid ditemukan pada *bifurcatio* jalan udara. Jika antigen mencapai tempat ini, akan terjadi *secretory immune response*, dan sejumlah besar antigen terlarut akan dapat menyeberangi epitel hidung di tempat lainnya, menuju imunitas sistemik atau terjadi toleransi (KUPPER *et al.*, 1992).



Gambar 1. Sel-sel M dan induksi kekebalan mukosa

Sel-sel M berada dalam tempat induksi mukosa (*mucosal inductive sites*) pada saluran pencernaan dan pernafasan atas, terutama dalam *Peyer's patches* dan NALT, tonsil dan adenoid. Sel M diduga mempunyai peranan penting dalam pengolahan antigen dan kemungkinan induksi kekebalan mukosa yang antigen spesifik di tempat efektor mukosa (*mucosal effector sites*)

Sumber: VAN GINKEL *et al.* (2000)

## IMUNISASI INTRANASAL AKTIF ATAU PASIF UNTUK PENCEGAHAN PENYAKIT VIRUS

Untuk virus influenza, virus dapat tetap hidup dalam partikel yang cukup kecil (kurang dari 5  $\mu\text{m}$ ), sehingga mudah dihirup ke dalam saluran udara kecil di dalam paru-paru. Akibatnya, infeksi dimulai secara menyeluruh di semua bagian saluran pernafasan. Untuk mengatasi terjadinya infeksi, *secretory* IgA dapat melakukan proteksi silang yang lebih baik terhadap perubahan antigenik yang heterolog dibandingkan IgG yang ada secara sistemik (WELTZIN dan MONATH, 1999).

Pada mencit, jika diberikan gamma globulin secara intranasal sebelum atau sesudah ditantang dengan virus influenza, maka mencit dapat dilindungi terhadap infeksi yang fatal. Pengobatan intranasal sangat efisien dan membutuhkan dosis antibodi 50 mg/kg untuk proteksi, sedangkan jika diberikan secara parenteral, maka akan membutuhkan 2000 sampai 3000 mg/kg untuk efek yang serupa. Kapasitas proteksi dari *secretory* IgA yang diisolasi dari pencucian saluran pernafasan mencit yang telah diimunisasi dengan hemaglutinin virus influenza juga telah dipelajari. Pemberian 600 ng IgA secara intranasal pada saat 3 jam sebelum ditantang dengan virus, memberikan proteksi hampir sempurna terhadap infeksi paru-paru oleh galur virus influenza yang mempunyai hemaglutinin sama seperti yang digunakan untuk mengimmunisasi mencit. Proteksi yang tidak komplis terjadi jika mencit ditantang dengan virus yang membawa hemaglutinin dari galur yang sudah mengalami pergeseran antigenik (TAMURA *et al.*, 1991).

Antibodi monoklonal terhadap virus influenza telah digunakan untuk memperlihatkan adanya proteksi dari *secretory antibody* pada saluran pernafasan bagian atas. Telah dibandingkan daya proteksi IgA monomerik, IgA polimerik dan monoklonal IgG terhadap hemaglutinin virus influenza. Jika antibodi diberikan secara parenteral, IgA polimerik muncul dalam sekresi hidung sebagai akibat transpor transepitelial. Tetapi hanya sedikit IgG atau IgA monomerik yang dapat dideteksi dalam sekresi hidung sesudah pemberian parenteral tadi. Jika mencit ditantang 4 jam setelah pemberian antibodi IgA polimerik akan lebih protektif dibandingkan dengan IgG terhadap infeksi saluran pernafasan bagian atas (RENEGAR dan SMALL, 1991).

Pemberian vaksin influenza inaktif secara intranasal pada mencit, menunjukkan adanya proteksi, tidak hanya terhadap virus homolog tetapi juga galur heterolog dan vaksinasi tersebut dapat menginduksi IgG dan IgA (LIANG *et al.*, 1994; TUMPEY *et al.*, 2001). Demikian pula pada manusia, pemberian vaksin secara intra nasal dengan virus hidup yang sudah dilemahkan dapat melindungi terhadap virus heterolog (TUMPEY *et al.*, 2001).

## STRATEGI UNTUK MENINGKATKAN KEKEBALAN MUKOSA

Pemakaian antigen spesifik untuk vaksin tetap menjadi bahan penelitian guna keberhasilan pencegahan penyakit yang terutama diperoleh dari masuknya virus patogen melalui mukosa.

Secara umum, faktor yang dapat menimbulkan respon kekebalan mukosa dan kekebalan selular meliputi imunisasi dengan vaksin secara per oral atau intra nasal. Vaksin hidup atau yang sudah dilemahkan dan diberikan per oral dapat menimbulkan respon kekebalan mukosa secara umum. Proteksi yang sangat baik terhadap reinfeksi, memori kekebalan yang persisten, dan kekebalan kelompok yang lebih baik, karena dapat terjadinya penyebaran virus vaksin secara lateral dan mudahnya pemberian vaksin.

Pada saat ini untuk hewan ternak besar, hanya sedikit vaksin mukosal yang tersedia. Hal ini mungkin berkaitan dengan kekhawatiran akan bahaya replikasi agen penyakit dan sedikitnya pengguna vaksin sehingga vaksin tidak ekonomis untuk diproduksi. Selain itu, juga sulit untuk menggunakan vaksin mukosal bagi agen yang tidak dapat bereplikasi dan jika diberikan peroral akan mudah terbuang atau diinaktivasi oleh enzim mukosa dan flora bakteri pada usus. Keterbatasan lain adalah kurangnya kontak optimal dari antigen dengan sel M dan jaringan mukosa yang terlibat dalam penangkapan dan pemrosesan antigen. Pada Tabel 1 dapat dilihat usaha pendekatan yang telah dilakukan untuk pembuatan vaksin mukosal yang efektif (OGRA *et al.*, 2001).

## IMUNISASI DENGAN MENGGUNAKAN VAKSIN MUKOSAL

Penggunaan vaksin untuk pencegahan penyakit infeksius telah banyak dilakukan. Pada Tabel 2 dapat dilihat perkembangan vaksin untuk penyakit virus yang dibuat sejak tahun 1700 sampai akhir-akhir ini. Terlihat bahwa vaksin mukosal telah cukup efektif digunakan untuk pencegahan beberapa penyakit yang disebabkan adenovirus, rotavirus, dan Influenza A.

Di Indonesia, penggunaan vaksin mukosal pada ayam atau unggas sejak lama telah dikenal. Berbagai vaksin unggas dapat dilihat pada Tabel 3. Cara pemberian vaksin ini biasanya secara per oral atau intra nasal. Secara umum, vaksin ini telah terbukti dapat memberikan perlindungan yang baik pada unggas jika dilakukan dengan susunan program vaksinasi yang efektif. Penggunaan vaksin mukosal untuk ternak atau hewan besar di Indonesia belum umum dikenal kecuali untuk penyakit khusus tertentu seperti penyakit *Septicaemia Epizootica* (SE) yang disebabkan bakteri *Pasteurella multocida* B : 2.

**Tabel 1.** Cara pendekatan pembuatan vaksin untuk meningkatkan kekebalan mukosa

Tujuan	Cara pendekatan
Mereduksi virulensi dan meningkatkan kandungan antigen	Pembuatan protein rekombinan, vektor hidup, vaksin subunit, vaksin DNA
Perbaikan dalam cara pemberian secara intranasal	Penggunaan bahan pembawa/ <i>carrier</i> seperti <i>copolymer</i> , <i>microsphere</i> , <i>liposome</i> , <i>virus like particles</i> (VLP) dan <i>Immune-stimulating-complexes</i> (ISCOM)
Perbaikan interaksi mukosa dengan antigen	Pembuatan antigen yang adhesif, penggunaan adjuvan yang potensial
Peningkatan respon kekebalan	Penggunaan adjuvan mukosa, melakukan kombinasi imunisasi sistemik dan imunisasi mukosa, imunisasi <i>transcutaneous</i> atau rute imunisasi lainnya

Sumber: OGRA *et al.* (2001)

**Tabel 2.** Penggunaan vaksin untuk pencegahan penyakit viral pada hewan dan manusia

Periode	Tahun	Vaksin	Efikasi vaksin dengan cara pemberian secara	
			mucosal	sistemik
1700 – 1799	1798	Smallpox	-	0
1800 – 1899	1885	Rabies	-	+
1900 – 1959	1945	Influenza	-	+
	1955	Poliomyelitis (IPV)	-	+
1960 – 2000	1960	Poliomyelitis (OPV)	+	-
	1963	Measles	-	+
	1969	Mumps	-	+
	1969	Rubella	-	+
	1969	Adenovirus	+	-
	1981	Hepatitis B	-	+
	1992	<i>Japanese encephalitis</i>	-	+
	1995	Hepatitis A	-	+
	1995	Varicella zooster	-	+
	1998	Rota virus	+	-
2001		Influenza A	+	-

+ = Baik; - = Tidak efektif; 0 = Tidak ada informasi

Sumber: OGRA *et al.* (2001)

**Tabel 3.** Penggunaan vaksin mukosal aktif untuk pencegahan penyakit viral pada ayam di Indonesia

Penyakit viral	Rute vaksinasi
<i>Newcastle Disease</i>	p.o., i.n., i.o.
<i>Infectious Laryngo Tracheitis</i> (ILT)	i.o.
<i>Infectious Bronchitis</i> (IB)	p.o.
<i>Infectious Bursal Disease</i> (Gumboro)	p.o.

i.n. : intra nasal (tetes hidung atau *spray*)

p.o.: per oral (melalui air minum)

i.o. : intra ocular (tetes mata atau *spray*)

Pada Tabel 4 dapat dilihat tingginya respon antibodi yang timbul dengan rute imunisasi yang berbeda-beda untuk vaksin yang sama. Vaksin influenza dan *cholera* digunakan pada penelitian ini.

Terlihat bahwa respon antibodi IgA yang cukup baik diperoleh setelah dilakukan vaksinasi ulangan pada imunisasi per oral atau intranasal, dibandingkan dengan jika imunisasi diberikan secara sistemik. Sedangkan TUMPEY *et al.* (2001) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa, setelah melakukan vaksinasi secara intranasal pada mencit dengan virus influenza H3N2 inaktif, titer antiviral IgG dan IgA dalam serum dan paru-paru jauh lebih tinggi dibandingkan dengan vaksinasi serupa yang dilakukan secara subkutan.

#### ARAH PERKEMBANGAN VAKSIN MUKOSAL

Sistem kekebalan mukosa adalah sistem yang kompleks dan luas cakupannya, yang dapat merangsang sejumlah besar *secretory* IgA, seperti juga kekebalan selular pada permukaan mukosa untuk

**Tabel 4.** Distribusi dan besarnya respon antibodi spesifik pascavaksinasi tunggal dan ulangan dengan rute vaksinasi berbeda

Rute imunisasi	Respon IgA									
	Kelenjar mammae		Nasofaring		Saluran pernafasan		Intestin		Saluran genital	
	Vak. I	Vak. II	Vak. I	Vak. II	Vak. I	Vak. II	Vak. I	Vak. II	Vak. I	Vak. II
Oral	+	++	++	+++	+	+	+	+++	+	+
Nasal	+	++	+	+++	+	++	+	++	++	+++
Rektal	+	++	+	++	+	++	++	+++	+	++
Genital	-	-	-	-	-	-	-	-	±	++
Sistemik	+	+	+	+	+	++	+	++	+	++

+ sampai +++ : Respon IgA minimal sampai tingkat yang sangat tinggi; - : Tidak terdeteksi

Vak. I : Vaksinasi pertama; Vak. II : Vaksinasi ulangan

**Sumber:** OGRA *et al.* (2001)

mencegah masuknya virus patogen (VAN GINKEL *et al.*, 2000). Jika virus patogen yang dilemahkan digunakan dalam vaksin mukosal, maka sistem kekebalan mukosa dapat sangat efektif karena dapat memberikan perlindungan terhadap virus patogen tersebut dan menimbulkan perlindungan berjangka waktu lama.

Vaksin mucosal, vaksin yang akan dikembangkan pada masa yang akan datang, meliputi: strategi vaksinasi yang mengandung tidak hanya virus yang sudah dilemahkan (contohnya, vaksin DNA atau vaksin subunit) tetapi dapat dikombinasikan dengan ajuvan mukosal yang kuat, seperti QS-21 yaitu saponin yang diturunkan dari kulit kayu pohon di Amerika Selatan (*Quillaja saponaria Molina*) (VAN GINKEL *et al.*, 2000), mutant dari enterotoksin atau *modified heat labile enterotoxin E.coli* (TUMPEY *et al.*, 2001), sitokin seperti IL-12 (BOYAKA *et al.*, 1999; VAN GINKEL *et al.*, 2000) atau dapat juga digunakan *mucosal delivery system*, seperti butiran berukuran mikro atau nano (BOGGS, 2003). Untuk penyakit *human immunodeficiency virus* (HIV) telah dikembangkan vaksin intranasal dengan menggunakan interleukin-12 (IL-12) dan toksin *cholera* subunit B sebagai ajuvan guna meningkatkan kekebalan mukosa dan kekebalan sistemik (METZGER, 2003).

*Bacterial adhesins* dapat juga digunakan dalam pembuatan vaksin mukosal. Antibodi mukosal terhadap protein ini akan memblokir kemampuan virus patogen untuk memasuki rintangan mukosa. Adhesin merupakan hal yang menarik untuk digunakan dalam vaksin mukosal. *Pilus-associated adhesin* FimH dari *uropathogenic E. coli* yang mengikat oligosakarida manose adalah target vaksinnya. Pemberian vaksin yang mengandung FimH ke permukaan mukosa telah diuji keefektifannya dibandingkan dengan vaksin yang diberikan secara parenteral. Telah terindikasi bahwa imunitas yang bersifat *adhesin specific* dapat menimbulkan perlindungan terhadap virus patogen (WIZEMANN *et al.*, 1999).

Untuk pengembangan vaksin guna pencegahan *avian influenza* (AI) pada unggas, CHEN *et al.* (2001) telah mengembangkan vaksin dengan ajuvant *cholera toxin* (CT), dan juga suatu *oligodeoxynucleotide* sintetik yang mengandung imunostimulan CpG motif (CpG DNA). Vaksin inaktif yang sudah beradjuvan tersebut dibuat dalam bentuk serbuk dan mampu menimbulkan antibodi dalam serum dan antibodi mukosa. Pengembangan vaksin AI secara intranasal juga telah dilakukan oleh ASAMI *et al.* (2002) dengan berbagai ajuvant. TUMPEY *et al.* (2001) juga telah menyatakan vaksin AI H3N2 dengan menggunakan *modified E. coli heat labile* sebagai ajuvant dapat melindungi mencit 100% terhadap tantangan dengan virus *highly pathogenic* AI H5N1, sedangkan jika vaksin diberikan secara subkutan tidak dapat melindungi dan juga tidak menunjukkan adanya penurunan virus pada jaringan paru-paru 5 hari setelah ditantang.

Hasil-hasil penelitian sampai saat ini menunjukkan bahwa vaksin mukosal merupakan vaksin yang potensial digunakan di masa mendatang untuk dapat melindungi hewan dan juga manusia dari penyakit virus, terutama yang ditularkan melalui mukosa. Penggunaan vaksin mukosal guna pencegahan penyakit AI pada manusia dan hewan telah banyak dipelajari dan telah terbukti keefektifannya (CHEN *et al.*, 2001; TUMPEY *et al.*, 2001; ASAMI *et al.*, 2002; DARRELL *et al.*, 2003.)

## KESIMPULAN

Pencegahan penyakit pada hewan dengan pemberian vaksin melalui mukosa adalah cara yang penting untuk pengendalian penyakit infeksius yang disebabkan oleh virus yang infeksiusnya dimulai melalui mukosa. Kemampuan untuk menginduksi respon kekebalan setelah imunisasi ditentukan oleh sejumlah

faktor kompleks yang saling berinteraksi. Hal ini meliputi sifat, bentuk, jumlah antigen, cara/rute pemberiannya, mukosa tempat pemberian, bahan pembawa antigen, pengaruh imunologik lain dan kondisi hewan saat pemberian vaksin mukosal. Vaksin mukosal telah berhasil dan efektif dipakai untuk pencegahan penyakit tertentu pada manusia maupun hewan. Berbagai cara pendekatan telah dilakukan untuk pembuatan vaksin mukosal yang efektif. Hal ini meliputi perbaikan komponen vaksin, penggunaan adjuvant dan bahan pembawa antigennya. Pada masa yang akan datang, vaksin mukosal akan sangat menguntungkan untuk dikembangkan karena dapat menimbulkan kekebalan mukosa dan menginduksi kekebalan yang protektif terhadap infeksi, serta cara pemberiannya yang mudah dan praktis.

#### DAFTAR PUSTAKA

- ASAHI, Y., T. YOSHIKAWA, I. WATANABE, T. IWASAKI, H. HASEGAWA, Y. SATO, S. SHIMADA, M. NANNO, Y. MATSUOKA, M. OHWAKI, Y. IWAKURA, Y. SUZUKI, C. AISAWA, T. SATA, T. KURATA and S. TAMURA. 2002. Protection against influenza virus infection in polymeric Ig receptor knockout mice immunized intranasally with adjuvant- combined vaccines. *J. Immunol.* 168: 2930 – 2938.
- BAR-SHIRA, E. and A. FRIEDMAN. 2005. Ontogeny of gut associated immunocompetence in the chick. *Israel J. Vet. Med.* 62(2): 42 – 50.
- BOGGS, W. 2003. Mucosal immunization induces HIV specific vaginal secretory IgA response. *J. Med. Virol.* 69: 163 – 172.
- BOYAKA, P.N., M. MARIAROSARIA, R.J. JACKSON, S. MENON, H. KIYONO, E. JIRILLO and J.R. MCGHEE. 1999. IL12 is an effective adjuvant for induction of mucosal immunity. *J. Immunol.* 162: 122 – 128.
- CHEN, D., S.B. PERIWAL, K. LARRIVEE, C. ZULEGER, C.A. ERICKSON, R.L. ENDRES and L.G. PAYNE. 2001. Serum and mucosal immune response to an inactivated influenza virus vaccine induced by epidermal powder immunization. *J. Virol.* 75(17): 7956 – 7965.
- DARRELL, K., D. SWAYNE and D. SUAREZ. 2003. Annual report. Mucosal immunization to protect poultry against Avian Influenza. South Atlantic Athens, GA, Southeast Poultry Res. Lab. Exotic and Emerg. Avian Viral Dis. Res. Unit. U.S. Depart. of Agriculture.
- HIBAYASHI, Y., H. KURATA, H. FUNATO, T. NAGAMINE, C. AIZAWA, S. TAMURA, K. SHIMADA and T. KURATA. 1990. Prevention of rhinovirus infection in chimpanzees by soluble intracellular adhesion molecule-1. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 155: 1206 – 1210.
- KLIPPER, E., D. SKLAN and A. FRIEDMAN. 2001. Response, tolerance and ignorance following oral exposure to a single protein antigen in *Gallus domesticus*. *Vaccine* 19: 2890 – 2897.
- KUPER, C.F., P.J. KOORNSTRA, D. M.H. HAMELEERS, J. BIEWENGA, B.J. SPIT, A.M. DULJVESTIJN, P.J.C. VAN BREDA VRIESMAN and T. SMINIA. 1992. The role of nasopharyngeal lymphoid tissue. *Immunol. Today* 13: 219 – 224.
- LIANG, S., K. MOZDZANOWSKA, G. PALANDINO and W. GEHARD. 1994. Heterosubtypic immunity to influenza type A virus in mice. *J. Immunol.* 152: 1653 – 1661.
- MAYHOFER, G. 1994. Epithelial disposition of antigen. *In: Immunopharmacology of Epithelial Barriers.* GOLDIE, R (Ed.). Academic Press Inc. London, UK. pp. 19 – 70.
- MC GHEE, J.R. and H. KIYONO. 1993. New perspectives in vaccine development: Mucosal immunity to infections. *Infect. Agent. Dis.* 2: 55 – 73.
- MC NABB, P.C. and T.B. TOMASI. 1981. Host defense mechanisms at mucosal surfaces. *Annu. Rev. Microbiol.* 35: 477 – 496.
- METZGER, D.W. 2003. Intranasal vaccination using interleukin-12 and cholera toxin subunit B as adjuvants to enhance mucosal and systemic immunity to human immunodeficiency virus type-1 glycoproteins. *J. Virol.* 77(10): 5589 – 5597.
- MILLER, M.A. 2004. Adjuvanticity and the mucosal immune system. <http://www.utmem.edu/microbiology/mark1.htm>.
- NEUTRA, M.R., A. FREY and J.P. KRAEHNBUHL. 1996. Epithelial M cells: Gateways for mucosal infection and immunization. *Cell.* 86: 345 – 348.
- NGUYEN, H.H., F.W. VAN GINKEL., H.L. VU., M.J. NOVAK, J.R. MC GHEE and J. MESTECKY. 2000. Gamma interferon is not required for mucosal cytotoxic T-lymphocyte response or heterosubtypic immunity to influenza A virus infection in mice. *J. Virol.* 74: 5495 – 5501.
- OGRA, P.L., H. FADEN and R.C. WELLS. 2001. Vaccination strategies for mucosal immune response. *Clin. Microbiol. Rev.* 14(2): 430 – 445.
- OHSHIMA, K. and K. HIRAMATSU. 2002. Immunohistochemical localization of three different immunoglobulin classes in the Harderian gland of young chickens. *Tissue Cell.* 34(2): 129 – 133.
- OLAH, I., T.R. SCOTT, M. GALEGO, C. KENDALL and B. GLICK. 1992. Olfactory epithelium expressing immunoglobulins M and A but not immunoglobulin G develop an intimate relationship with central canal epithelium in the Harderian gland of chicken. *Poult. Sci.* 71: 664 – 676.
- RENEGAR, K.B. and P.A. SMALL. 1991. Passive transfer of local immunity to influenza virus infection by IgA antibody. *J. Immunol.* 146: 1972 – 1978.

- TAMURA, S., H. FUNATO, Y. HIRUBAYASHI, Y. SUZUKI, T. NAGAMINE, C. AIZAWA and T. KURATA. 1991. Cross protection against influenza A virus infection by passively transferred respiratory tract IgA antibodies to different hemagglutinin molecules. *Eur. J. Immunol.* 21: 1337 – 1344.
- TUMPEY, T.M., M. RENSHAW, J.D. CLEMENTS and J.M. KATZ. 2001. Mucosal delivery of inactivated influenza vaccine induces B cell dependent heterosubtypic cross protection against lethal influenza A H5N1 virus infection. *J. Virol.* 75(11): 5141 – 5150.
- VAN GINKEL, F.W., H.H. NGUYEN and J.R. MC GHEE. 2000. Vaccine for mucosal immunity to combat emerging infectious disease. *Emerg. Infect. Dis.* 6(2): 123 – 132.
- WALKER, R.I. 1994. New strategies for using mucosal vaccination to achieve more effective immunization. *Vaccine* 12: 387 – 400.
- WELTZIN, R. and T.P. MONATH. 1999. Intranasal antibody prophylaxis for protection against viral disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 12(3): 383 – 393.
- WELTZIN, R., P. LUCIA-JANDRIS, P. MICHETTI, B.N. FIELDS, J.P. KRACHENBUHL and M.R. NEUTRA. 1989. Binding and transepithelia transport of immunoglobulins by intestinal M cells: Demonstration using monoclonal IgA antibodies against enteric viral proteins. *J. Cell. Biol.* 108: 1673 – 1685.
- WIZEMANN, T.M., J.E. ADAMAU and S. LANGERMANN. 1999. Adhesins as targets for vaccine development. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 395 – 403.