

# Respon terhadap Antigen Protektif Vaksin Pertusis Seluler dan Aseluler pada Mencit

Sarwo Handayani, Muljati P, Siti Mariani, Farida S, Sumarno, Dewi Parwati  
Pusat Penelitian Penyakit Menular, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan  
Departemen Kesehatan RI, Jakarta

## ABSTRAK

Ada dua macam vaksin pertusis yaitu vaksin pertusis seluler dan aseluler. Vaksin pertusis seluler adalah vaksin pertusis yang mengikutsertakan seluruh komponen sel bakteri *Bordetella pertussis*. Pemeriksaan potensi vaksin pertusis seluler telah dilakukan secara rutin dengan menggunakan mencit yang dipelihara di Puslit Penyakit Menular. Vaksin pertusis aseluler merupakan vaksin pertusis yang hanya mengandung komponen antigen protektif PT (Pertussis Toxin) dan FHA (Filamentous Haemagglutinin). Vaksin ini dikembangkan di Jepang sejak tahun 1981 dan telah dilakukan uji coba di beberapa negara termasuk Indonesia.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon mencit yang dipelihara di Puslit Penyakit Menular terhadap antigen protektif PT dan FHA pada vaksin pertusis aseluler dan membandingkan terhadap vaksin pertusis seluler serta memeriksa potensi vaksin yang digunakan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa respon mencit terhadap antigen PT dan FHA dalam vaksin pertusis aseluler cukup baik yaitu 24,6 EU/ml (PT) dan 96,5 EU/ml (FHA), sedangkan dalam vaksin pertusis seluler adalah 30,9 EU/ml (PT) dan 106,9 EU/ml (FHA). Potensi vaksin yang diperiksa cukup baik dan tidak jauh berbeda dengan hasil pemeriksaan di Jepang. Hal ini menunjukkan bahwa mencit yang dipelihara secara konvensional di Puslit Penyakit Menular memenuhi syarat untuk digunakan dalam pemeriksaan potensi vaksin pertusis aseluler.

## PENDAHULUAN

Vaksin pertusis seluler (*whole cell vaccine*) adalah vaksin yang dibuat dari suspensi bakteri *Bordetella pertussis* yang telah mati. Penggunaan vaksin ini telah terbukti secara efektif menurunkan angka kesakitan dan kematian karena penyakit pertusis. Pemberian vaksin dan pertusis seluler digabung bersama vaksin toksoid difteri dan tetanus.

Penggunaan vaksin pertusis seluler meskipun aman, sering diikuti reaksi samping, seperti kemerahan, pembengkakan, demam dan gejala sistemik lainnya<sup>(1)</sup>.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menghilangkan endotoksin yang diperkirakan menyebabkan terjadinya efek samping dan memurnikan komponen yang memberikan per-

lindungan efektif terhadap infeksi kuman *Bordetella pertussis*.

Pada tahun 1981 di Jepang telah dikembangkan vaksin pertusis aseluler, yaitu vaksin pertusis yang hanya mengandung antigen Pertussis Toxin (PT) dan Filamentous Hemagglutinin (FHA). Kedua komponen ini memberikan perlindungan efektif terhadap infeksi kuman *Bordetella pertussis* face I dari strain Tohama; setelah dibuang komponen endotoksinya, antigen tersebut dimurnikan dan didetoksifikasi dengan formalin, yang terakhir ditambah dengan sedikit ajuvan gel aluminium<sup>(5)</sup>. Vaksin DPT aseluler (DPaT) ini telah digunakan dalam program imunisasi di Jepang sejak tahun 1981<sup>(1,2)</sup>, dan telah dilakukan uji coba di beberapa negara lain termasuk Indonesia.

Komposisi PT dan FHA pada vaksin pertusis berbeda satu

sama lain tergantung pabrik pembuatnya. Vaksin pertusis buatan Takeda Jepang mengandung komposisi PT dan FHA dengan perbandingan 9:1 dan sedikit aglutinogen, komposisi ini hampir sama dengan vaksin pertusis buatan Kaketsuken yaitu 8:2. Sedangkan vaksin buatan Biken dengan komposisi 1:1 tanpa aglutinogen<sup>(1)</sup>. Vaksin DPT yang selama ini digunakan secara rutin dalam program imunisasi di Indonesia adalah vaksin DPT buatan Biofarma. Vaksin ini merupakan vaksin seluler yang mengandung semua komponen sel *Bordetella pertussis*.

Selama ini vaksin aseluler belum digunakan di Indonesia sehingga pemeriksaan potensinya pun belum dilakukan secara rutin. Pemeriksaan potensi vaksin pertusis aseluler adalah sama dengan pemeriksaan potensi vaksin pertusis seluler yaitu dengan metode *challenge* secara intraserebral pada mencit.

Penggunaan mencit untuk pemeriksaan potensi vaksin pertusis didasarkan atas pertimbangan bahwa di samping pemeliharaan yang lebih mudah dan murah, juga dapat memberikan gambaran yang hampir sama dengan manusia. Mencit yang digunakan di luar negeri adalah mencit yang dipelihara khusus (*specific pathogen free*), sedangkan mencit di Indonesia dipelihara secara konvensional. Untuk itu perlu diketahui apakah mencit yang dipelihara di Puslit Penyakit Menular dapat memberikan respon imun yang memenuhi syarat untuk digunakan dalam pemeriksaan potensi vaksin pertusis aseluler.

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan antibodi terhadap vaksin pertusis seluler dan aseluler terutama terhadap antigen PT dan FHA dengan cara ELISA pada mencit.

## TUJUAN

Mengetahui respon antibodi mencit yang dipelihara di Puslit Penyakit Menular terhadap antigen protektif dalam vaksin pertusis aseluler dan seluler.

Mengetahui apakah mencit yang dipelihara di Puslit Penyakit Menular memenuhi syarat untuk dapat digunakan dalam pemeriksaan potensi vaksin pertusis aseluler.

Memeriksa potensi vaksin aseluler dengan menggunakan mencit Indonesia dan membandingkannya dengan hasil pemeriksaan di Jepang.

## BAHAN DAN CARA KERJA

Sebanyak 180 ekor mencit betina *strain Swiss* yang dibiakkan di Puslit Penyakit Menular, umur 4 minggu dengan berat badan 14-16 gram, dibagi dalam 3 kelompok yang diimunisasi dengan:

- 1) Standard Vaksin Pertussis (NSPV) 12,0 IU/ml, dibuat tiga pengenceran yaitu 12, 60 dan 300 kali masing-masing mengandung 1 IU/ml, 0,2 IU/ml dan 0,04 IU/ml.
- 2) Vaksin pertusis seluler (*Whole cell vaccine*) buatan Bio Farma dibuat 3 pengenceran yaitu 8, 40 dan 200 kali.
- 3) Vaksin pertusis aseluler buatan Kaketsuken Jepang, dibuat 3 pengenceran yaitu 8, 40, dan 200 kali.

Setiap kelompok mencit yang terdiri dari 60 ekor, masing-masing disuntik dengan salah satu vaksin tersebut sebanyak 0,5 ml secara intraperitoneal (Setiap pengenceran vaksin disuntikkan pada 20 ekor mencit). Dua minggu dan 3 minggu setelah imunisasi, dilakukan pengambilan darah vena dari ujung ekor mencit sebanyak 300 ul. Darah kemudian dipisahkan seranya

dan disimpan pada suhu -20°C sampai dilakukan pemeriksaan ELISA untuk mengukur kadar antibodi.

## Pengukuran titer antibodi

Pengukuran titer antibodi mencit terhadap antigen PT dan FHA vaksin pertusis seluler dan aseluler dilakukan secara ELISA<sup>(5)</sup>. *Coating antigen* menggunakan antigen PT dan FHA buatan laboratorium CIBA Jepang, dengan konsentrasi 4 ug P/ml untuk PT dan 2 ug/ml untuk FHA. Hasil diperoleh berdasarkan *chequerboard* yang telah dibuat.

*Reference sera* (sediaan baku) buatan laboratorium CIBA Jepang, dibuat dari serum *anti mice* yang mengandung PT 250 Unit dan FHA 400 unit dalam bentuk kering.

## Pengujian potensi vaksin

Pada kelompok mencit yang diimunisasi dengan vaksin pertusis seluler dan aseluler, sehari setelah pengambilan darah (2 dan 3 minggu setelah imunisasi) mencit *dichallenge* dengan cara menyuntikkan *Bordetella pertussis strain BP 18-323* sebanyak 50 ribu kuman dalam 0,03 ml suspensi secara intraserebral. Sebagai kelompok kelola digunakan 50 mencit yang dibagi dalam 5 kelompok, masing-masing disuntik dengan berbagai konsentrasi kuman, untuk menentukan *Lethal Dosage 50* (LD 50).

Pengamatan terhadap kematian hewan dilakukan selama 2-3 minggu. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan standar pemeriksaan potensi vaksin (NSPV) buatan Jepang dan dihitung dengan Probit Analisis untuk menentukan potensi vaksin pertusis.

## Analisis

- Membandingkan *geometric mean titer* anti PT dan anti FHA mencit setelah imunisasi dengan vaksin pertusis seluler dan aseluler, serta melihat kenaikan titer pada 2 dan 3 minggu setelah imunisasi.
- Menghitung potensi vaksin pertusis seluler dan aseluler dan membandingkannya dengan hasil pemeriksaan di Jepang.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

*Bordetella pertussis* merupakan penyebab penyakit pertusis (batuk rejan) yang mengandung beberapa komponen yaitu *Pertussis Toxin* (PT), *Filamentous Hemagglutinin* (FHA), Aglutinogen, endotoksin dan protein lainnya<sup>(4)</sup>.

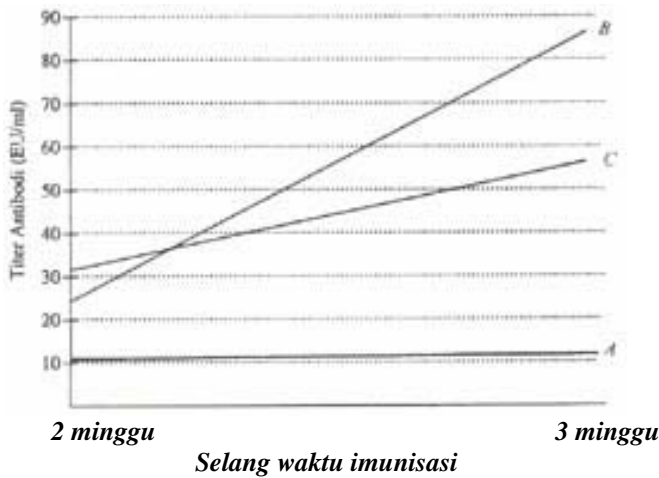
*Pertussis Toxin* (PT) dan *Filamentous Hemagglutinin* (FHA) merupakan antigen protektif utama dalam vaksin pertusis. PT sering disebut juga LPF (*Lymphocytosis Promoting Factor*), pertussigen, *islet-activating protein* dan *histamin-sensitizing factor*, merupakan suatu protein toksin yang mempunyai peranan biologis sebagai perangsang limfositosis, hipersensitivitas histamin, menaikkan produksi insulin, dan memberikan perlindungan pada mencit terhadap *challenge* intraserebral kuman *Bordetella pertussis*. Sedangkan FHA merupakan suatu filamen protein yang membantu perlekatan kuman *Bordetella pertussis*. Dua minggu setelah imunisasi, titer antibodi mencit terhadap antigen PT setelah vaksinasi

pertusis aseluler adalah 24,6 EU/ml sedangkan setelah vaksinasi pertusis seluler lebih tinggi yaitu 30,9 EU/ml. Seminggu kemudian titer antibodi mencit mengalami kenaikan menjadi 87,9 EU/ml dan 56,0 EU/ml pada vaksinasi pertusis aseluler dan seluler (**Tabel 1**). Pada **Gambar 1** terlihat kenaikan titer antigen PT setelah vaksinasi aseluler lebih tinggi daripada vaksinasi pertusis seluler.

Tabel 1. Titer antibodi mencit terhadap antigen PT dan FHA 2 dan 3 minggu setelah imunisasi.

Jenis vaksin	Sampel	Antibodi PT (EU/ml)		Antibodi FHA (EU/ml)	
		2 minggu	3 minggu	2 minggu	3 minggu
NSPV	20	10,7	11,9	72,5	21,0
P aseluler	20	24,6	87,9	96,5	169,0
P seluler	20	30,9	56,0	106,9	333,0

Gambar 1. Titer antibodi mencit terhadap antigen PT setelah 2 dan 3 minggu imunisasi.



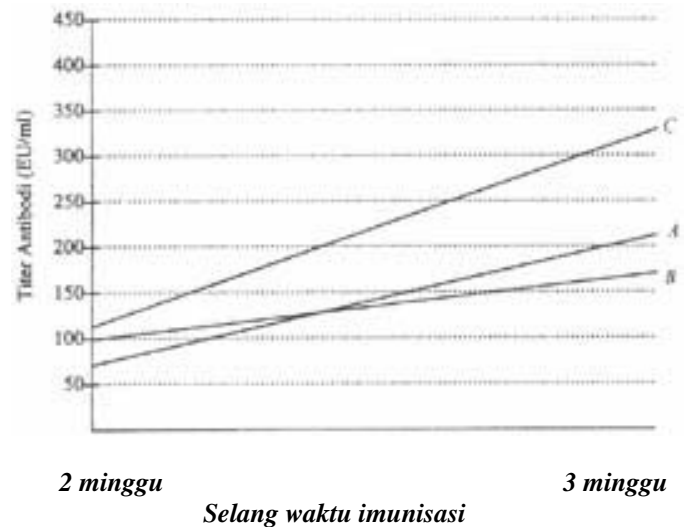
A = NSPV    B = P. aseluler    C = P. seluler

Titer antibodi mencit terhadap antigen FHA setelah 2 minggu imunisasi, antara vaksin pertusis aseluler dan seluler tidak jauh berbeda yaitu 96,5 RU/ml dan 106,9 EU/ml. Namun satu minggu kemudian titer antibodi terhadap vaksin pertusis seluler mengalami kenaikan yang cukup tinggi menjadi 333,0 EU/ml, sedangkan terhadap vaksin pertusis aseluler adalah 169,0 EU/ml (**Gambar 2**).

Titer antibodi mencit terhadap antigen FHA lebih tinggi daripada terhadap antigen PT baik pada vaksin pertusis seluler maupun aseluler; hal ini karena dalam vaksin pertusis aseluler yang digunakan, komposisi antigen FHA lebih besar daripada PT (8:2).

Antibodi terhadap vaksin pertusis seluler lebih tinggi jika dibandingkan dengan antibodi terhadap vaksin pertusis aseluler, karena kandungan antigen PT dan FHA dalam vaksin seluler lebih tinggi dari vaksin aseluler (**Tabel 1**).

Salah satu faktor yang mempengaruhi titer antibodi yang terbentuk ialah potensi vaksin yang digunakan. Potensi vaksin yang baik dan memenuhi syarat akan menghasilkan titer antibodi



A = NSPV    B = P. aseluler    C = P. seluler

Gambar 2. Titer antibodi mencit terhadap antigen FHA setelah 2 dan 3 minggu imunisasi.

yang tinggi pada selang waktu tertentu. Hasil potensi vaksin pertusis aseluler dan seluler dapat dilihat pada **Tabel 2**. Pada *challenge* 2 minggu setelah imunisasi potensi vaksin aseluler adalah 6,4 IU/ml sedangkan pada vaksin seluler lebih tinggi yaitu 10,0 IU/ml. Bila *challenge* dilakukan 3 minggu setelah imunisasi potensi vaksin pertusis aseluler adalah 9,1 IU/ml, sedangkan potensi vaksin seluler adalah 10,6 IU/ml. WHO menetapkan bahwa potensi vaksin pertusis yang baik dan cukup protektif digunakan adalah lebih besar dari 8 IU/ml dan waktu *challenge* vaksin pertusis seluler adalah 2-3 minggu setelah imunisasi; namun berdasarkan perhitungan waktu dan biaya maka ditentukan 2 minggu. Sedangkan untuk vaksin aseluler waktu *challenge* adalah 3 minggu, untuk mendapatkan titer antibodi yang optimal.

Tabel 2. Titer antibodi mencit terhadap antigen PT dan FHA 2 dan 3 minggu setelah imunisasi.

Jenis vaksin	Potensi vaksin (IU/ml)	
	2 minggu	3 minggu
P. aseluler	6,4	9,1
P. seluler	10,0	10,6

Keterangan :  
 NSPV : National Standard Pertusis Vaccine  
 EU/ml : Elisa Unit/ml  
 IU/ml : International Unit/ml

Potensi vaksin pertusis seluler dan aseluler yang digunakan memenuhi persyaratan minimum yang ditetapkan oleh WHO. Namun mengingat perhitungan ekonomi, maka waktu *challenge* untuk pemeriksaan potensi vaksin pertusis seluler dilakukan pada 2 minggu setelah imunisasi karena selain waktu yang diperlukan relatif singkat juga menghemat biaya pemeliharaan mencit. Sedangkan untuk vaksin pertusis aseluler *challenge* dilakukan 3 minggu setelah imunisasi, untuk men-

dapatkan titer antibodi yang optimal.

Apakah mencit yang digunakan cukup baik untuk pemeriksaan potensi vaksin pertusis aseluler, dapat diketahui dengan membandingkan hasil pemeriksaan yang dilakukan oleh pembuatnya (Jepang). **Tabel 3** menunjukkan hasil pemeriksaan potensi vaksin seluler dan aseluler dari *batch* yang sama yang dilakukan di Indonesia dan Jepang. Tampak bahwa potensi vaksin pertusis yang diperiksa di Jepang lebih tinggi daripada pemeriksaan di Indonesia. Hal ini disebabkan karena sistem pemeliharaan mencit di Jepang lebih baik, jika dibandingkan dengan Indonesia yang dipelihara secara konvensional. Namun demikian, nilai potensi vaksin tersebut masih memenuhi standar minimum yang ditetapkan oleh WHO. Hal ini menunjukkan bahwa mencit yang dipelihara secara konvensional di Puslit Penyakit Menular dapat digunakan untuk pengukuran potensi vaksin pertusis aseluler.

**Tabel 3.** Hasil pemeriksaan potensi vaksin pertusis seluler dan aseluler yang diperiksa di Indonesia dan di Jepang.

Vaksin	Jepang (IU/ml)	Indonesia (IU/ml)
P. aseluler (Lyop)	10,88	9,05
P. seluler	20,22	14,09
		12,50

#### KESIMPULAN

- Pada 2 minggu setelah imunisasi, titer antibodi mencit terhadap antigen PT dan FHA pada vaksin pertusis seluler dan aseluler hampir sama. Titer antibodi mengalami kenaikan pada 3 minggu setelah imunisasi terutama terhadap antigen FHA.

- Titer antibodi terhadap antigen FHA lebih tinggi daripada antigen PT baik pada vaksin pertusis seluler maupun aseluler.
- Potensi vaksin pertusis seluler dan aseluler yang digunakan cukup baik, *challenge* pada pemeriksaan potensi vaksin pertusis seluler dilakukan 2 minggu setelah imunisasi, sedangkan pada vaksin pertusis aseluler adalah 3 minggu.
- Mencit yang dibiakkan secara konvensional di PPM Jakarta terbukti dapat digunakan untuk pemeriksaan potensi vaksin pertusis aseluler.

---

#### UCAPAN TERIMA KASIH

*Kami sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini.*

#### KEPUSTAKAAN

1. Kactz S. Periuissis vaccination : Acellular Pertussis Vaccine for Reinforcing and Booster Use. Supplementary ACID Statement. MMWR 1992; 41: 1-3.
2. Kimura M, Kuni-Sakai H. Pertussis Vaccine in Japan. Acta Paediatr Jpn 1988; 30: 143-6.
3. Viljannen et al. Serological Diagnosis of Pertussis : IgM, IgA and IgG antibodies against Bordetella pertussis measured by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Scand J Infect Dis 1982;14: 117-9.
4. Kimura M, Hikino N. Result with a New DPT Vaccine in Japan. Develop. Biol. Standard. 1985; 61: 545-61.
5. Kaketsuken. Manual of Anti-PT and anti-FHA Assay. 1991.

---

*What the soul is, the soul itself knows not  
(Cicero)*