

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science

APPLICATION OF EXOPOLYSACCHARIDE PRODUCED BY *Chlorella vulgaris* AS ADJUVANT FOR *Mannheimia haemolytica* A2 VACCINE IN GOAT

INSYIRAH HUSNA BINTI KAMARADIN

2020

Main Supervisor : Professor Mohd Effendy Abd. Wahid, Ph.D.

Co- Supervisor : Dr Suvik Assaw, Ph.D.

School/Institute : Institute of Marine Biotechnology

Pneumonic manheimiosis is a common respiratory disease among small ruminants caused by *Mannheimia haemolytica* A2. Presently, the most efficient and cost-effective mean of protection against this disease is through proper intranasal vaccination but the commercially available vaccines shown poor immunogenicity responses, or low protection level. Therefore, improving the vaccine via stimulating greater immune response requires incorporation of adjuvant. This study measures the potential of exopolysaccharide (EPS) extracted from *Chlorella vulgaris* as an adjuvant vaccine that can trigger the humoral and cellular immune response in both mucosal and systemic immunity against *M. haemolytica* A2 infection. Initially, prior to formation of Exopolysaccharide- *M. haemolytica* A2 (EPS-MHA2) vaccine, tests conducted to verify EPS's characteristics which include using of Gel Permeation Chromatography (GPC) shown its molecular weight of 2398 Da. Its typical signals for polysaccharides were detected by Fourier Transform Infrared Spectra (FTIR). Scanning Electron Microscope (SEM) displayed the compact microstructure of EPS surface view while cytotoxicity test proved EPS nontoxicity. Subsequently, the potentiality of EPS-MHA2 as adjuvanted vaccine was put to pre-clinical test on white rats to determine its ability to enhance and stimulate immune response, which indicated by the significant high-level production of antibody (IgM, IgG and IgA) in blood serum of Sprague Dawley. Final clinical test on goat including Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and One-way ANOVA analysis had proven the

effectiveness of this adjuvanted vaccine which indicated by significant increasing level of IgM, IgG and IgA after the intratracheal injection of live *M. haemolytica* A2, its potential in elevating the mucosal secretory IgA (sIgA) in lung lavage and the significant increase in size area and lymphocyte number in bronchus associated lymphoid tissue (BALT) of goats. Overall, EPS possess a good potential in becoming as adjuvant for MHA2 vaccine, however further efforts can be done to increase the production level of specific humoral immune responses (IgM, IgG and IgA) in systemic immune compartments thus its effectiveness in protecting the goats from pneumonic manheimiosis disease.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu
sebagai memenuhi keperluan untuk ijazah Sarjana Sains

**APLIKASI EKSPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN DARIPADA
Chlorella vulgaris SEBAGAI ADJUVAN BAGI *Mannheimia haemolytica* A2
VAKSIN DALAM KAMBING**

INSYIRAH HUSNA BINTI KAMARADIN

2020

Penyelia utama : Profesor Mohd Effendy Abd. Wahid, Ph.D.

Penyelia bersama : Dr Suvik Assaw, Ph.D.

Pusat pengajian/Institut : Institut Bioteknologi Marin

Radang paru-paru merupakan penyakit paru-paru yang biasa dijangkiti dikalangan ternakan haiwan kecil, disebabkan oleh bakteria *Mannheimia haemolytica* A2. Sekarang ini, perlindungan yang paling efektif dan menjimatkan kos terhadap penyakit ini, adalah melalui vaksinasi intranasal yang betul, tetapi vaksin yang sedia ada di pasaran menunjukkan kurang dalam memberi tindak balas yang efektif dan seterusnya tidak memberikan perlindungan yang secukupnya. Oleh itu, bagi meningkatkan vaksin dalam menghasilkan tindak balas immunisasi yang berganda kerjasama adjuvan amatlah di perlukan. Kajian ini telah dijalankan untuk menguji samada eksopolisakarida (EPS) yang diekstrak dari *Chlorella vulgaris* mempunyai kemampuan atau tidak dalam menjadi adjuvan vaksin yang boleh meningkatkan tindak balas humoral dan selular immuniti pada peringkat mukosal dan sistemik terhadap jangkitan *M. haemolytica* A2. Pada mulanya, sebelum pembentukan Eksopolisakarida- *M. haemolytica* A2 (EPS-MHA2) vaksin, ujian dijalankan untuk sahkan karakter EPS, yang mana termasuk menggunakan Kromatografi Penyerapan Gel menunjukkan kadar berat EPS adalah 2398 Da. Tanda kebiasaan polisakarida dikesan melalui Infra Merah Spektroskopi. Mikroskop Pengimbas Elektron menunjukkan mikrostruktur permukaan EPS seperti padat dan berbucu, manakala ujian toksik membuktikan EPS adalah tidak toksik. Seterusnya, potensi adjuvan vaksin EPS-MHA2 telah diletakkan kepada ujian pre-klinikal terhadap tikus putih untuk menentukan kebolehan dalam meningkatkan dan merangsang tindak balas immunisasi, yang mana ditunjukkan oleh kadar penghasilan antibodi (IgM, IgG dan

IgA) yang tinggi dalam serum darah Sprague Dawley. Terakhir, ujian klinikal terhadap kambing, termasuk ujian imunosorben berkaitan enzim (ELISA) dan ANOVA analisis membuktikan keberkesanan adjuvan vaksin yang ditunjukkan oleh peningkatan tahap IgM, IgG dan IgA yang bermakna selepas suntikkan trakea dalaman oleh *M. haemolytica* A2 yang hidup, potensi dalam meningkatkan mukosal rembesan IgA dalam cecair paru paru dan peningkatan bermakna pada saiz kawasan dan bilangan limfosit pada bronkus-berkaitan tisu limfoid pada kambing. Keseluruhannya, EPS mempunyai potensi yang bagus dalam menjadi sebagai adjuvan untuk MHA2 vaksin, walaubagaimanapun usaha lanjutan boleh dilakukan untuk meningkatkan penghasilan tindak balas tahap imun humoral spesifik IgM, IgG dan IgA dalam sistemik immuniti, seterusnya meningkatkan keberkesanan dalam melindungi kambing dari penyakit radang paru-paru.