

STUDI HUBUNGAN SIFAT ANTIGENIK GALUR VIRUS INFECTIOUS BURSAL DISEASE

Arini Nurhandayani

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

PENDAHULUAN

Infectious Bursal Disease (IBD) atau Gumboro yang pertama kali dikemukakan oleh Cosgrove tahun 1962 (Seneviratna, 1969) adalah penyakit virus yang menyebabkan nekrosis jaringan lymphoid, terutama pada bursa fabrisius, limpa, ceca tonsil dan thymus. Menyerang unggas umur 3-6 minggu dengan gejala depresi, diare, pendarahan alat pencernaan dan pembengkakan yang akhirnya atrofi dari bursa fabrisius (Lukert, 1984).

Berdasarkan uji netralisasi virus IBD dapat dibedakan dalam 2 serotipe. Serotipe yang mula-mula ditemukan atau serotipe I adalah virus yang diisolasi dari ayam, 2 virus dari vaksin komersial dan 1 virus dari kalkun. Sedangkan yang digolongkan dalam serotipe II adalah isolasi virus IBD dari kalkun (Jackwood dan kawan-kawan, 1982).

Penelitian ini dilakukan di National Veterinary Assay Laboratory Jepang pada waktu penulis mengikuti training tahun 1988 dengan menggunakan 5 macam vaksin IBD produksi Jepang dari galur Lukert, K dan IQ yang diuji netralisasi silang berdasarkan uji potensi yang memenuhi persyaratan minimum produk biologik untuk obat hewan. Seleksi salah satu galur dari 2 galur virus yang dinetralisasikan akan memudahkan dalam pengujian vaksin IBD. Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi sifat antigenik dari 3 galur virus di atas.

MATERI DAN METODA

Serum

Ayam Specific Pathogen Free (SPF) umur satu hari diinokulasi dengan satu dosis vaksin hidup IBD (Lukert atau K) secara peroral, sedangkan untuk vaksin mati (IQ) diinjeksikan secara intra muskuler. Serum diambil 3-4 minggu setelah inokulasi.

Virus

Tiga galur virus IBD yang telah dilemahkan digunakan dalam percobaan ini, masing-masing adalah Lukert (Gen Corporation), K (Kaket-suken) dan IQ (Nisseiken).

Biakan Sel

Embryo telur ayam SPF umur 10 hari dibersihkan dari kepala, kaki, sayap, alat visera, dipotong halus dan ditripsinasi (0,25% trypsin) pada suhu 37°C selama 5 menit. Suspensi sel disaring dalam media penumbuh (Growth media) dan disentrifus 1500 rpm selama 5 menit. Endapan sel diresuspensikan dalam medium penumbuh yang mengandung Eagle's Minimum Essential Media (MEM), 0,295% tryptose phosphate broth (TPB), 5% Fetal Calf Serum (FCS), antibiotik dan 0,12% NaHCO₃ dengan pH akhir antara 7,0 - 7,2. Kandungan sel adalah 1,2 × 10⁶ sel per ml. Suspensi sel dibagikan dalam cawan petri dan diinkubasikan pada suhu 37°C dalam udara yang mengandung CO₂ 5% selama 24 jam.

Uji Virus Netralisasi

Serum yang telah diinaktivasi pada suhu 56°C selama 30 menit diencerkan secara seri 2 kali dengan larutan Eagle's MEM yang mengandung NaHCO₃. Masing-masing pengenceran dicampur dengan volume yang sama dari larutan virus yang mengandung 100 plaque forming unit (PFU) virus IBD. Campuran virus-serum diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 jam dan diinokulasikan masing-masing sebanyak 0,1 ml pada 2 cawan petri biakan sel CEF per pengenceran serum. Setelah inkubasi pada cawan petri dituangkan 4 ml media agar I yang mengandung Eagle's MEM dengan 1% agar Bacto, 0,295% TPB, 1% FCS, antibiotik dan 0,12% NaHCO₃. Media agar ke II dituangkan 2 ml per cawan petri setelah inkubasi 3 hari pada suhu udara yang mengandung 5% CO₂. Media agar II adalah media agar I ditambah 0,01% merah netral. Titer

antibodi serum dihitung berdasarkan kebalikan dari pengenceran serum tertinggi dari reduksi plaque 50%.

HASIL DAN DISKUSI

Dari Tabel 1 didapatkan uji netralisasi silang antara galur Lukert, K dan IQ. Titer antibodi netralisasi antara galur Lukert dan K ditemukan perbedaan tidak lebih dari dua kali, sedangkan dengan galur IQ didapatkan tingkat perbedaan titer sampai 4–8 kali.

Tabel 2 menunjukkan bahwa galur Lukert dan IQ dalam uji netralisasi silang termasuk dalam serotipe yang sama yang dibuktikan dengan hasil penghitungan R menurut Archetti dan Horsfall (1950) adalah 1,0, yang berarti sifat antigenik dari 2 galur tersebut adalah 100%. Untuk galur IQ yang memperlihatkan nilai R sama dengan 0,25 dan 0,35 terhadap Lukert dan K, menunjukkan bahwa sifat antigeniknya adalah 25 dan 35%.

Tabel 1. Cross neutralization test of IBD virus

Serum	No. of serum	Strain		
		Lukert	K	IQ
Anti Lukert	1	6,400*	12,800	1,600
	2	3,200	3,200	400
Anti K	1	800	1,600	800
	2	1,600	800	200
Anti IQ	1	100	100	400
	2	200	200	800

*Antibody titer expressed as reciprocal of serum dilution.

Table 2. Antigenic relatedness of IBD virus strains

	Lukert	K	IQ
Lukert	1.00		
K	1.00	1.00	
IQ	0.25	0.35	1.00

Relatedness Values (R) are calculated according to Archetti and Horsfall (1950)

$$R = \sqrt{r_1 \times r_2}$$

$$\left[\begin{array}{l} r_1 = \frac{\text{anti Lukert against K}}{\text{anti Lukert against Lukert}} \\ r_2 = \frac{\text{anti K against Lukert}}{\text{anti K against K}} \end{array} \right]$$

Namun oleh McFerran dan kawan-kawan, (1980) dikatakan bahwa meskipun digolongkan dalam serotipe I sesama galur virus IBD bisa memberikan sifat antigenik hanya 30%. Dan selanjutnya untuk membedakannya dengan galur virus serotipe II adalah bila sifat antigeniknya sama dengan atau kurang dari 0,2% (McNulti, 1987).

Jackwood dan kawan-kawan, (1987) juga menerangkan bahwa untuk membuktikan antara 2 galur virus IBD adalah identik diperlukan nilai R sama atau lebih dari 0,8. Namun dapat pula terjadi beberapa galur virus yang digolongkan dalam serotipe I memberikan variasi sifat antigenik antara 0,19 – 0,68. Perbedaan derajat sifat antigenik ini kemungkinan adanya kegagalan program vaksinasi ataupun metoda yang digunakan dalam percobaan saling berbeda. Dikatakan pula bahwa uji virus netralisasi selain memberikan gambaran adanya kekebalan dari sistem vaksinasi juga menunjukkan perbedaan sub tipe dari virus IBD.

Dari hasil tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa galur Lukert, K dan IQ adalah galur virus yang digolongkan virus IBD serotipe I. Lukert dan K adalah galur virus yang homolog, sedangkan untuk IQ meskipun termasuk serotipe I yang diisolasi dari ayam adalah sub tipe dari virus lain dalam serotipe I.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Dr. N. Hirayama, Dr. M. Nakamura dan Dr. Nakashima dari National Veterinary Assay Laboratory Jepang yang telah membantu penelitian dan penulisan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Archetti, I. and F.L. Horsfall. 1950. Persistent antigenic variation of influenza A viruses after incomplete neutralization in ovo with heterologous immune serum. *J. Exp. Med.* 92: 441–462.
- Jackwood, D.H., Y. M. Saif and J.H. Hughes. 1982. Characteristics and serologic studies of two serotypes of infectious bursal diseases. 26: 871–882.
- Jackwood, D.H. and Y. M. Saif. 1987. Antigenic diversity of infectious bursal disease virus. *Avian diseases.* 31: 766–770.
- Lukert, P.D. and S. B. Hitchner. 1984. Infectious bursal disease in: *Diseases of poultry.* 8th. ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 566–576.

- McFerran, J. B., M.S. McNulty, E. R. McKillep, T. J. Connor, R. M. McCracken, D. S. Collins and G. M. Allan. 1980. Isolation and serological studies with infectious bursal disease viruses from fowl, turkeys and ducks: Demonstration of a second serotype. *Avian pathology*. 9: 395-404.
- McNulty, M. S. and Y. M. Saif. 1987. Antigenic relationship of non serotype I turkey infectious bursal disease viruses from the United States and United Kingdom. *Avian diseases*. 32: 374-375.
- Seneviratna, P. 1969. *Diseases of Poultry*. 2nd. ed. John Wright & Sons Ltd. Bristol. 43-44.

A STUDY OF ANTIGENIC RELATIONSHIP AMONG STRAINS OF INFECTIOUS BURSAL DISEASE

SUMMARY

This study was undertaken to evaluate the antigenic relationships of Lukert, K and IQ strains of Infectious Bursal Disease virus. Less than two fold difference in neutralizing antibody titer was observed among Lukert and K strains. IQ strain was different 4 to 8 times in the titers with the antiserum against Lukert and K strains. These results suggest that Lukert and K strains were antigenically identical and distinct from IQ strain even though they are belonged to serotype I.