

Peran Sistem Kekebalan Non-spesifik dan Spesifik pada Unggas terhadap *Newcastle Disease*

Dyah Ayu Hewajuli dan NLPI Dharmayanti

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata No. 30, Bogor 16114
dhewajuli@yahoo.com

(Diterima 11 Februari 2015 – Direvisi 7 Agustus 2015 – Disetujui 31 Agustus 2015)

ABSTRAK

Newcastle disease (ND) disebabkan oleh virus *avian paramyxovirus-1* yang termasuk genus *Avulavirus* dan famili Paramyxoviridae. Infeksi ND pada unggas ditandai dengan kelainan patologi pada organ limfoid humoral (*bursa fabricius*) dan seluler (timus dan limpa). Kelainan patologis ini dapat mempengaruhi kerja sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik dalam melawan infeksi virus ND. Tujuan makalah adalah membahas peran sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik pada ND. Komponen utama kekebalan non-spesifik adalah *barrier* fisik dan kimia (bulu dan kulit atau mukosa), sel fagosit (makrofag dan *natural killer*), protein komplemen dan mediator peradangan serta sitokin. Interferon (IFNs) termasuk kelompok sitokin yang berperan dalam kekebalan non-spesifik atau *innate* (alami). Virus ND virulen yang mengkode gen protein V mampu menekan IFN tipe I. Hal ini menyebabkan sistem kekebalan non-spesifik gagal melawan infeksi virus ND *strain* virulen sehingga mengakibatkan sifat patogenitas yang parah pada unggas. Pertahanan inang melawan serangan virus ND akan digantikan oleh kekebalan spesifik (*adaptive immunity*) apabila kekebalan alami tidak mampu melawan infeksi virus ND. Sistem kekebalan spesifik terdiri dari *humoral mediated immunity* (HMI) dan *cell mediated immunity* (CMI). Sel-sel sistem imun yang bereaksi spesifik dengan antigen adalah limfosit B yang memproduksi antibodi dan limfosit T yang mengatur sintesis antibodi maupun sel T yang mempunyai fungsi efektor atau sitotoksik langsung. Respon kekebalan non-spesifik dan spesifik tidak dapat dipisahkan karena saling melengkapi dalam melawan invasi virus ND.

Kata kunci: *Newcastle disease*, organ limfoid, sistem kekebalan, non-spesifik, spesifik

ABSTRACT

The Role of Non-specific and Specific Immune Systems in Poultry against Newcastle Disease

Newcastle disease (ND) is caused by avian paramyxovirus-1 which belong to *Avulavirus* genus and Paramyxoviridae family. The birds have abnormalities in humoral (*bursa fabricius*) and cellular (thymus and spleen) lymphoid organs. Lesions decrease the immune system. Immune system consists of non-specific and specific immune systems. The objective of this article is to discuss the role of non specific and specific immune system in ND. The main components of non-specific immunity are physical and chemical barrier (feather and skin or mucosa), phagocytic cells (macrophages and natural killer), protein complement and the mediator of inflammation and cytokines. Interferons (IFNs) that belong to a group of cytokines play a major role in the nonspecific or innate (natural) immunity. The virulent ND virus encodes protein of V gene can be suppressed IFN type I. This leads to non-specific immune system fail to respond to the virulent strains resulting in severe pathogenicity. The defense mechanism of the host is replaced by specific immunity (*adaptive immunity*) when natural immunity fails to overcome the infection. The specific immune system consists of humoral mediated immunity (HMI) and cell-mediated immunity (CMI). The cells of immune system that react specifically with the antigen are B lymphocytes producing the antibodies, T lymphocytes that regulate the synthesis of antibodies and T cells as effector or the direct cytotoxic cells. Both non-specific and specific immunities are complementary against the invasion of ND virus in the birds.

Key words: *Newcastle disease*, limphoid organs, non-specific, specific immunity

PENDAHULUAN

Newcastle disease (ND) termasuk satu dari empat besar penyakit infeksi selain *highly pathogenic avian influenza* (HPAI), *infectious bronchitis* (IB) dan *low pathogenic avian influenza* (LPAI) yang menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan dalam industri perunggasan. Angka kesakitan dan angka kematian mencapai 100%. Penyakit ini bersifat endemis dan ditemukan menyebar di beberapa negara di dunia (Sa'idi & Abdu 2008).

Penyakit ini menyebar dengan cepat pada spesies ayam, kalkun dan spesies unggas yang lain. Periode inkubasi dan gejala klinis ND dipengaruhi oleh beberapa faktor. Masa inkubasi ND pada unggas antara 3-6 hari tergantung pada jenis spesies inang, kekebalan inang serta konsentrasi dan *strain* virus ND. Gejala klinis non-spesifik yang ditunjukkan oleh ND meliputi depresi, bulu rontok, sulit bernafas dengan mulut terbuka, hipertermia, anoreksia, lesu dan hipotermia sebelum kematian. Diagnosis diferensial untuk ND yaitu penyakit *avian influenza* (AI), *infectious*

laringotracheitis (ILT) dan *mycoplasmosis* (Alexander & Senne 2008). Meskipun demikian, dugaan terhadap ND muncul apabila organ limpa, timus, *bursa fabricius* dan saluran pencernaan unggas yang sakit mengalami perdarahan dan nekrosis (Courtney et al. 2013).

Infeksi ND pada unggas dibedakan menjadi lima patotipe berdasarkan tingkat keparahan gejala klinisnya yaitu *viscerotropic velogenic*, *neurotropic velogenic*, *mesogenic*, *lentogenic* dan *asymptomatic enteric* (Piacenti et al. 2006). Penyakit ND tipe *velogenic* bersifat sangat patogen dengan rata-rata persentase angka kesakitan dan kematian mendekati 100% pada unggas, khususnya ayam yang tidak divaksinasi ND (Sa'idi & Abdu 2008). Virus ND akan menyebabkan kelainan pada organ paru-paru, saluran pencernaan dan sistem syaraf pusat (Wakamatsu et al. 2006c). Seperti pada periode inkubasi, banyaknya lesi dan kerusakan organ yang timbul pada unggas juga dipengaruhi oleh *strain* dan patotipe virus ND, inang dan faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi keparahan penyakit. Lesi perdarahan dan nekrosis ditemukan pada usus kecil, proventrikulus dan seka tonsil (Wakamatsu et al. 2006c).

Virus ND genotipe VIIb telah banyak ditemukan di Asia. Genotipe ini menyebabkan nekrosis yang lebih parah pada jaringan limfoid khususnya limpa jika dibandingkan dengan genotipe lainnya (Hu et al. 2012). Infeksi virus ND genotipe VII menyebabkan wabah di beberapa peternakan unggas komersial di Indonesia. Sebagian besar virus ND penyebab wabah tersebut mempunyai motif R-R-R-K-R dan R-R-Q-K-R pada sekuen gen F dan termasuk tipe *velogenic* (Dharmayanti et al. 2014). Tekanan respon kekebalan inang oleh infeksi virus ND menyebabkan kerusakan organ limfoid primer bersifat sementara atau permanen (Nasser et al. 2000). Rue et al. (2011) melaporkan bahwa sistem kekebalan spesifik (humoral dan seluler) tidak dapat berfungsi secara optimal pada ayam yang terinfeksi virus ND karena jaringan limfoid tidak berkembang sehingga menyebabkan kelainan patologi atau kerusakan pada organ limfoid seluler seperti limpa dan timus. Degenerasi pada organ limfoid humoral juga dapat terjadi pada *bursa fabricius* unggas. Makalah ini membahas peran sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik pada ND.

VIRUS NEWCASTLE DISEASE DAN MEKANISME INFESINYA

Penyakit ND disebabkan oleh virus *avian paramyxovirus-1* yang termasuk genus *Avulavirus* dan famili Paramyxoviridae (Lamb et al. 2005). Virus ini berbentuk pleomorfik, sebagian besar berbentuk bulat kasar dengan diameter 100-500 nm tetapi juga ditemukan dalam bentuk filamen dengan diameter 100 nm. Panjang virus *paramyxovirus* terlihat bervariasi

(Yusoff & Tan 2001). Panjang genom virus ND sebesar 15.186 nukleotida. Genomnya tidak bersegmen, bersifat *single-stranded* (ss) dan berpolaritas RNA negatif. Genom virus ini mempunyai enam protein utama yang menyusunnya yaitu *Nucleocapsid protein* (N), *Phosphoprotein* (P), *Matrix protein* (M), *Fusion protein* (F), *Hemagglutinin-neuraminidase protein* (HN) dan *Large polymerase protein* (L) (Rout & Samal 2008). Terdapat dua protein non-struktural lainnya yang dihasilkan selama proses transkripsi gen P yaitu V dan W. Protein N, P, HN dan F terletak di bagian luar *envelope* sedangkan protein M terdapat di lapisan dalam virion (Peeters et al. 2004).

Protein HN berperan dalam tahap penempelan virus ND pada reseptor sel inang yang mengandung *sialic acid* yaitu *glycoprotein* dan *glycolipid* (Iorio et al. 2009). Protein F sebagai perantara penempelan virus dengan penyatuhan virus dan membran sel inang. Selanjutnya, RNA virus dilepaskan ke dalam sitoplasma kemudian terjadi replikasi (Ferreira et al. 2004). Proses masuknya virus ke dalam sel melalui dua cara yaitu pertama, penyatuhan secara langsung antara *envelope* virus dengan membran plasma dan kedua, diperantarai oleh reseptor endositosis. Penetrasi virus melalui reseptor endositosis tergantung pada kondisi pH-nya. Pada *paramyxoviruses*, proses penyatuhan membran virus dengan membran plasma inang tidak tergantung pH (San Roman et al. 1999), namun hasil penelitian lain menunjukkan penyatuhan virus ND dengan sel inang mampu meningkatkan pH, artinya penetrasi virus ND pada sel inang juga dipengaruhi oleh kondisi pH (Sánchez-Felipe et al. 2014).

Disamping mempunyai reseptor yang cocok dengan virus ND, sel inang juga harus memiliki enzim tripsin yang fungsinya mirip protease untuk memecah protein F0 menjadi F1 dan F2 pada infeksi ND avirulen walaupun protease tidak selalu diperlukan untuk penempelan virus ND virulen (Sakaguchi et al. 1991). Penyebaran reseptor sel pada ayam yang peka terhadap virus ND avirulen bersifat terbatas dan hanya ditemukan pada saluran pencernaan dan pernafasan atas, sedangkan replikasi virus ND virulen terjadi di sebagian besar jaringan inang (Brown et al. 1999).

Bouzari & Spardbrow (2006) melaporkan virus ND avirulen yang diinokulasikan lewat mulut bereplikasi di esofagus, tembolok dan proventrikulus satu hari pasca-inokulasi, lalu bereplikasi di duodenum, jejunum, ileum dan sekum, kemungkinan terjadi sebagai akibat dari viremia pada hari keempat hingga keenam pasca-infeksi.

ORGAN LIMFOID UNGGAS

Stem cell pada sumsum tulang membentuk sel-sel yang berperan dalam sistem kekebalan. Sebagian berkembang menjadi sel *myeloid* (fagosit, makrofag

dan mikrofag), sebagian menjadi calon sel limfoid (limfosit T, limfosit B dan *natural killer/NK*). Organ tersebut dinamakan organ limfoid yang dapat dibedakan menjadi limfoid primer dan sekunder (Liu et al. 2009).

Organ limfoid primer

Organ limfoid primer berfungsi sebagai tempat embriogenesis dan pematangan sel-sel limfoid, misalnya timus. Keberadaan sel plasma yang ditemukan pada timus ayam mampu merespon kekebalan secara langsung sehingga timus berperan juga sebagai organ limfoid sekunder (Treesh et al. 2014). Timus terletak berdekatan dengan saraf vagus dan vena jugularis pada leher. Timus mengecil dengan bertambahnya umur, sebagai tanda maturitas sistem imun pada individu. Timus merupakan organ untuk perkembangan limfosit T yang sudah matang lalu berpindah dari bagian kortek ke medula timus, memasuki sirkulasi tubuh melalui pembuluh medula timus (Oláh & Vervelde 2008).

Sel limfosit T biasanya bermigrasi ke kelenjar limfe perifer. Limfosit T dalam organ limfoid sekunder akan berkembang menjadi sel *T helper* (Th) atau *T cytotoxic* (Tc). Sel Th akan berinteraksi dengan antigen tertentu yang disajikan oleh *antigen presenting cell* (APC) melalui interaksi spesifik yaitu ikatan *major histocompatibility complex II* (MHC II) dan *cluster designation 4* (CD 4) (Moon et al. 2007). Sel yang mempunyai marker CD 8+, CD4-, TcR- digolongkan ke dalam Tc. Sel Tc berinteraksi dengan antigen yang diproses dalam sel somatik lain dengan ikatan MHC I dan CD8 (Fung-Leung et al. 1991).

Bursa fabricius berkembang maksimal pada umur 8-10 minggu dan mengalami puncak involusi pada umur 6-7 bulan (Ciriaco et al. 2003). *Bursa fabricius* dikelilingi oleh lapisan otot polos tebal berfolikel. Folikel terdiri dari dua bagian yaitu medula dan korteks. Folikel tersebar pada korteks dan medula yang terdiri dari limfosit, limfoblast, makrofag dan sel plasma (Masum et al. 2014). Limfosit terbesar terdapat di bagian korteks (Leena et al. 2012).

Bursa berkembang pada masa pembentukan embrio dan setelah penetasan. Pada saat penetasan, setiap folikel berhubungan secara langsung dengan epitel yang memisahkan ruangan limfoid dari lumen bursa. Perkembangan bursa menjadi lambat dan menyebabkan perubahan fungsi setelah penetasan. Dengan bertambahnya umur, apoptosis pada bursa terjadi pada umur 3-28 minggu (Fang & Peng 2014) sedangkan menurut Li et al. (2008) apoptosis dimulai pada umur 1-24 minggu.

Bursa fabricius merupakan tempat diferensiasi dan pematangan sel limfosit B. Kekurangan asam

amino seperti *Methionine* pada *bursa fabricius* menurunkan pembentukan limfosit dalam folikel tetapi meningkatkan apoptosis sehingga respon kekebalan humoral mengalami gangguan (Wu et al. 2013). Sel limfosit B pada organ limfoid sekunder dapat merespon antigen dan menghasilkan kekebalan humoral (antibodi) (Letran et al. 2011). Sel T CD4+ bereaksikan dengan peptida imunogenik dari daerah *V B cell receptor* (BCR) melalui MHC II menghasilkan klon sel B dalam jumlah besar. Sel limfosit B yang sudah terpapar antigen dalam organ limfoid sekunder akan berdiferensiasi menjadi sel plasma penghasil immunoglobulin (antibodi). Gangguan interaksi antara sel T yang spesifik dengan peptida BCR dan organ limfoid sekunder (*germinal center*) menyebabkan hambatan respon kekebalan sekunder (Heiser et al. 2011). Sel limfosit B akan membelah setelah terpapar antigen akan beristirahat sebagai limfosit B memori yang akan mensekresikan immunoglobulin spesifik berkadar sangat tinggi jika terpapar antigen yang sama (Mazengia et al. 2009).

Organ limfoid sekunder

Sel-sel kekebalan yang sudah matang di organ limfoid primer kemudian bersirkulasi dan masuk ke organ limfoid sekunder. Sel prekusor myeloid di dalam organ limfoid sekunder berdeferasiasi menjadi sel granulosit (netrofil, basofil dan eosinofil), sel Mast, sel eritrosit (Kovacic et al. 2014), sel monosit, sel makrofag serta sel NK (Fogg et al. 2006). Sel NK diperoleh dari sel prekusor myeloid yang mengekspresikan *killer immunoglobulin-like receptors* dalam jumlah besar (Grzywacz et al. 2011). Organ limfoid sekunder berfungsi untuk pematangan kembali dan seleksi terhadap sel-sel limfoid pada saat tubuh mulai berkontak dengan antigen tertentu serta terjadi proses seleksi kelompok sel limfoid yang kompeten untuk merespon antigen (Houston et al. 2008). Limpa dan *mucosal associated lymphoid tissue* (MALT) termasuk organ limfoid sekunder (Moon et al. 2007).

Pulpa merah pada limpa mengandung banyak eritrosit, berperan dalam hematopoik dan filter sirkulasi sel eritrosit sedangkan akumulasi sel limfosit banyak ditemukan pada pulpa putih (Oláh & Vervelde 2008). Organ limfoid sekunder tersusun dari kumpulan sel limfoid. Akumulasi jaringan limfoid menyebar sepanjang mukosa (MALT) dan tersebar secara alami sejak perkembangan embrio. Sel B dan sel T banyak ditemukan di organ limfoid MALT pada saluran pencernaan dan pernafasan dan kepala (Trenchi 2013). Tabel 1 menunjukkan letak dan penyebaran jaringan limfoid sekunder yang berhubungan dengan mukosa di berbagai organ.

Tabel 1. Letak dan penyebaran jaringan limfoid sekunder yang berhubungan dengan mukosa di berbagai organ

<i>Mucosal associated lymphoid tissue (MALT)</i>	
Nama	Letak
<i>Gut associated lymphoid tissue (GALT)</i>	<i>Meckel's diverticulum</i>
	<i>Peyer's patches</i>
	Esofagus-proventrikulus
	Seka tonsil
<i>Head associated lymphoid tissue (HALT)</i>	Kelenjar Harderian
	Jaringan paranasal dan laktimal
	Rongga konjungtiva nasal
<i>Bronchial associated lymphoid tissue (BALT)</i>	Bronkus primer dan sekunder
	Lamina propria
Organ lain	Kandung kemih, hati, pankreas, ginjal, oviduk

Sumber: Trenchi (2013)

Gut associated lymphoid tissue (GALT) tersusun atas kumpulan nodul limfoid seperti seka tonsil, *Meckel's divertikulum*, *Peyer's patches* dan tonsil. *Gut associated lymphoid tissue* pada ayam tersusun dari nodul-nodul limfoid yang membentuk organ limfoid. Posisi anatomi jaringan limfoid ini sangat stabil dan strukturnya sangat konsisten seperti pada seka tonsil. Tonsil merupakan suatu organ kompleks yang terdiri dari jaringan epitel yang dikelilingi oleh jaringan limfoid. Jaringan epitel tersebut mengandung sel limfoid, membentuk jaringan limfoepitel. Akumulasi sel limfoid T ditemukan terutama di ruang interfolikuler, sedangkan sel limfoid B akan membentuk *germinal center*. Organ tonsil terletak antara esofagus dan proventrikulus, sebagai garis pertahanan pertama (Oláh et al. 2003).

Seka tonsil adalah organ limfoid GALT terbesar sebagai penghubung sekum dan rektum (Janardhana et al. 2009). Seka tonsil baru berkembang sempurna saat unggas berumur empat hari. Sebagian besar jaringan limfoid mengandung sel TCR $\alpha\beta$ CD4 $^+$ dan sel CD8 $^+$. Sel CD8 $^+$ mempresentasikan keberadaan sel T $\delta\gamma$ dan sel NK. Sel limfosit B ditemukan pada daerah subepitel, *germinal center (GC)* dan epitel seka tonsil yang mengekspresikan keberadaan Ig M atau Ig A. Seka tonsil dan *Peyer's patches* fungsinya sama yaitu sebagai limfoid sekunder (Gómez Del Moral et al. 1998). *Peyer's patches* dapat dideteksi 1-6 buah pada saluran pencernaan, dengan ciri vili tebal dan berfolikel, daerah subepitel dan interfolikuler menyerupai seka tonsil. Sel makrofag banyak ditemukan pada subepitel. Sel T *dependent* yang mengekspresikan sel TCR $\alpha\beta$ lalu menjadi sel CD4 $^+$ dan IgY dalam jumlah besar dan IgM, IgA dalam jumlah kecil (Oláh et al. 2003). *Peyer's patches* dan

seka tonsil mempunyai precursor sel B (Muir et al. 2000).

Meckel's diverticulum (0,04-0,08 g, 0,5-0,7 cm) ditemukan pada permulaan distal jejunum. *Meckel's diverticulum* berfungsi sebagai perantara pasokan makanan dari kuning telur ke embrio. *Meckel's diverticulum* berkembang baik pada umur muda. *Meckel's diverticulum* terdiri dari *tunica mucosa*, *muscularis mucosa* dan *tunica serosa* yang mengandung folikel limfoid. Akumulasi limfoid dimulai pada umur dua minggu dan saat usia lima minggu sepanjang organ ini dipenuhi oleh jaringan limfoid (Igbokwe & Abah 2009). Pembentukan *germinal center (GC)* secara intensif terjadi antara umur lima dan tujuh minggu. Susunan GC berkaitan dengan sel sekretori, GC tidak aktif apabila sel sekretori tidak ditemukan pada GC yang ditandai dengan sedikit limfoblast dan banyak makrofag. Jaringan limfoid mencapai puncaknya pada umur 10 minggu dan masih dapat terdeteksi sampai umur 21 minggu (Oláh et al. 1984). Limfosit banyak ditemukan pada lapisan intraepitel dan lamina propria. Sel limfosit yang paling banyak ditemukan pada saluran pencernaan adalah sel limfosit T yang berperan dalam pengenalan antigen dan sinyal transduksi (Imhof et al. 2000).

Sel-sel limfoid pada *Peyer's patches* dan organ limfoid GALT menyerupai limfosit pada saluran respirasi, terdiri dari *tracheal associated lymphoid tissue* dan *bronchial associated lymphoid tissue (BALT)*. Struktur BALT tersusun dari bronkus primer, dan sekunder dan *air sacs*. Sel limfosit B dan T yang membentuk nodul di sepanjang bronkus primer dan sekunder. Leukosit, granulosit dan makrofag terdapat di *air sacs* (Kothlow & Kaspers 2008). Jumlah limfosit di bronkus primer sangat sedikit pada ayam umur satu hari. Pada minggu pertama leukosit CD45+ bermigrasi ke bronkus primer dan infiltrasi limfosit kecil ditemukan pada bronkus sekunder. Nodul limfosit pada BALT serta Ig Y, Ig M dan Ig A, CD4+ dan CD8+ berkembang setelah 3-4 minggu dan meningkat sampai umur 18 minggu (Fagerland & Arp 1993). Sel fagosit (makrofag, heterophil) banyak ditemukan pada *air sacs* (Crespo et al. 1998).

Kumpulan beberapa jaringan limfoid di kepala dikenal sebagai *head associated lymphoid tissue (HALT)* meliputi *Harderian glandula*, *lacrimal glandula*, *conjunctival associated lymphoid tissue*, sel limfoid pada lamina propria pada *nasal cavity*, *larynx* dan *nasopharynx*. Organ limfoid *Harderian glandula* terletak di belakang orbit bola mata dan merupakan penyusun terbesar organ limfoid sekunder HALT. Limfosit dan sel plasma juga ditemukan pada kelenjar laktimal dan jaringan sekitar mata. Organ limfoid *Harderian glandula* ditemukan di bagian ektodermal dan merupakan kelenjar *tubuloacinar eksokrin* serta berfungsi sebagai pembilas membran (Khan et al.

2007). Jaringan limfoid *Harderian glandula* terdiri dari struktur limfoepitel dan sel blast di kepala serta sel plasma dalam jumlah besar dengan tingkat pematangan yang berbeda. Kelenjar Harderian mengandung sel limfosit B pada jaringan limfoid bagian perifer atau pusat germinal serta sel limfosit T dan makrofag pada bagian interfolikuler atau struktur limfoepitel. Bagian utama dari kelenjar Harderian mengandung sel limfosit T dan sel plasma (sel limfosit B). Sel limfosit T dan B pada bagian ini terletak pada bagian yang berbeda tergantung pada tingkat perkembangan dan pematangan dari kedua sel limfosit tersebut (Olah & Vervelde 2008).

RESPON KEKEBALAN NON-SPESIFIK

Respon kekebalan non-spesifik (alamiah) terdiri dari faktor-faktor yang sudah ada sejak lahir atau sebelum tubuh terinfeksi mikroorganisme. Respon kekebalan ini bersifat cepat dan paling awal dalam pertahanan terhadap infeksi mikroorganisme. Sistem kekebalan non-spesifik terdiri dari beberapa komponen yaitu *barrier* fisik dan kimia (bulu, kulit, mukosa); sel fagosit (makrofag, NK, neutrofil, heterofil) (Ferdous et al. 2008); protein komplemen dan mediator peradangan dan sitokin (Scott & Owens 2008).

Sistem kekebalan non-spesifik tidak hanya melawan patogen tetapi juga mengawali terjadinya reaksi kaskade yang melibatkan berbagai macam komponen sistem kekebalan untuk selanjutnya menginduksi sistem kekebalan spesifik (adaptif). Sistem kekebalan non-spesifik sangat penting pada fase awal invasi mikroorganisme dengan cara membatasi penyebaran patogen sampai ke sistem kekebalan spesifik (sel limfosit B dan T) bekerja untuk melawan infeksi tersebut (Juul-Madsen et al. 2008). Invasi patogen ke dalam tubuh inang dapat melalui oral atau saluran pencernaan, penetrasi kulit atau mukosa, serta saluran pernafasan atau inhalasi.

Inhalasi partikel mikroorganisme dalam bentuk aerosol dilawan oleh sistem kekebalan respirasi unggas melalui filtrasi aerodinamik, mukosiliari, fagositosis. Perlekatan partikel mikroorganisme tergantung ukurannya. Partikel ukuran besar (3,7-7 μm) akan dibunuh di *nasal cavity* dan *trachea proximal* tetapi partikel yang lebih kecil mampu menginfeksi sepanjang saluran pernafasan. Partikel ukuran sedang (1,1 μm) akan tersaring di paru-paru dan *cranial air sacs* tetapi partikel yang lebih kecil (0,091 μm) akan mampu melewati seluruh paru-paru kemudian terperangkap dalam *abdominal air sacs* (Hayter & Besch 1974). Makrofag ditemukan dalam jumlah besar pada epitelium atrium jantung dan infundibular yang berperan penting mengeliminasi partikel dari udara (Nganpiep & Maina 2002). Leukosit dideteksi pada

permukaan *air sacs* sedangkan granulosit dan makrofag ditemukan pada sel saluran pernafasan dan fagosit mononuklear dapat dideteksi di parenkim paru-paru dan jaringan penghubung *air sacs* (Crespo et al. 1998). *Barrier* fisik dan kimia yang termasuk sistem kekebalan non-spesifik mengatur simbiosis mutualisme dengan mikroba flora normal pada saluran pencernaan. Pemahaman tentang bagaimana sistem kekebalan alami berupaya untuk melindungi dan menjaga keseimbangan dengan berbagai jenis mikroba sangat penting untuk mencegah dan pengobatan penyakit (Maynard et al. 2012).

Kekebalan non-spesifik diawali oleh reaksi reseptor yang dikenali oleh mikroorganisme (*pattern recognition receptors/PRRs*) dan *pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)*. Pengenalan PAMPs oleh PPRs baik secara sendiri maupun heterodimer dengan PRRs yang lain, *toll-like receptors (TLR)*, *nucleotide binding oligomerization domain proteins (NOD)*, *RNA helicases* seperti *retinoic acid induce-ible gen 1 (RIG-1)* atau *melanoma differentiation-associated protein 5 (MDA5)*, *lectin* tipe C mampu menginduksi respon sinyal intraseluler untuk mengaktifkan gen yang mengkode sitokin penyebab radang, faktor anti apoptosis dan peptida anti mikroba (Timmermans et al. 2013). Reseptor RIG-1 pada makrofag berperan penting dalam melindungi sel inang dari infeksi virus ND dan sebagai antivirus untuk melawan virus ND pada awal infeksi. Ekspresi RIG-1 dalam jumlah besar akan menurunkan replikasi virus ND (Fournier et al. 2012).

Reseptor sel sistem kekebalan non-spesifik bersifat kurang spesifik terhadap serangan mikroorganisme jika dibandingkan dengan reseptor sel sistem kekebalan spesifik BCR dan TCR. Reseptor sel pada sistem kekebalan non-spesifik ditemukan dalam jumlah yang lebih besar di seluruh tubuh jika dibandingkan dengan reseptor sel sistem kekebalan spesifik. Sistem kekebalan non-spesifik seluler memiliki sampai 100 jenis reseptor yang berbeda. Reseptor ini diekspresikan dengan frekuensi yang tinggi dan disebarluaskan berdasarkan tipe sel. Setiap reseptor diekspresikan pada jutaan sel kekebalan non-spesifik sebaliknya pada sistem kekebalan spesifik BCR dan TCR populasinya sangat sedikit pada sel yang diperoleh dari klon yang spesifik. Keragaman dan frekuensi reseptor yang digunakan untuk melawan patogen menyebabkan perbedaan respon kekebalan non-spesifik dan spesifik. Reseptor sel kekebalan nonspesifik untuk mendeteksi patogen mempunyai frekuensi yang tinggi sehingga menyebabkan respon yang terjadi sangat cepat, tetapi kemampuan membedakan patogen atau spesifitas rendah. Respon sel sistem kekebalan spesifik (BCR dan TCR) melambat tergantung pada proliferasi sel, tetapi spesifitasnya sangat tinggi (Juul-Madsen et al. 2008).

Infeksi virus pertama kali dikenali oleh protein inang yaitu protein TLR dan NOD. Sinyal berlangsung sangat cepat kemudian terjadi transkripsi faktor aktivasi yang menghasilkan interferon dan sitokin untuk menghambat replikasi virus. Infeksi virus ND mampu menginduksi *nitric oxide* (NO) dalam sel heterofil dan monosit dalam darah. Sel makrofag mengekresikan *interferon alpha* (IFN α) dan *interferon beta* (IFN β) sedangkan sel monosit dalam darah memproduksi *interferon gamma* (IFN- γ) (Ahmed et al. 2007). Respon aktivasi makrofag terdiri dari migrasi dan kemotaksis, fagositosis dan produksi reaktif nitrogen dan oksigen. Respon ini merupakan reaksi peradangan dan membatasi penyebaran patogen (Qureshi et al. 2000). Makrofag berfungsi sebagai *antigen presenting cell* (APC), akan mengaktifkan sel T melalui *co-stimulator* molekul dan stimulator sitokin (Houston et al. 2008). Infeksi virus ND strain virulen merangsang respon gen inang IFN α , IFN β , *interleukin 1* (IL-1) dan *interleukin 6* (IL-6) dalam leukosit limpa (Rue et al. 2011). Lebih lanjut, virus ND virulen mampu merangsang respon sitokin penyebab peradangan yaitu IFN α , IFN γ , IL-1 dan IL-6 dalam leukosit limpa tetapi respon ini tidak ditunjukkan oleh infeksi virus ND strain tidak virulen (Wakamatsu et al. 2006a; 2006b).

Virus ND genotipe VII b menyebabkan kelainan patologi apoptosis dan nekrosis yang berat pada limpa. Invasi genotipe ini pada unggas menimbulkan respon kekebalan non-spesifik dengan memproduksi sitokin (IFN- α , IFN- β , IFN- γ) lebih tinggi jika dibandingkan dengan genotipe virus ND lainnya. Lebih lanjut, aktivitas respon IFN yang semakin meningkat menyebabkan terjadinya peradangan, dan kerusakan jaringan. interferon (IFNs) adalah sitokin yang berperan dalam kekebalan non-spesifik atau *innate* (alami). Kadar IFN yang meningkat sebagai akibat dari efek anti virus yang dimilikinya terhadap replikasi virus ND dalam sel inang (Hu et al. 2012). Selain itu, IFN juga sebagai perantara apoptosis. Beberapa faktor seperti *IFN regulatory* (IRFs), protein kinase R (PKR), dan 2',5'-oligoadenylate/ sistem RNaseL berperan sebagai sinyal perantara IFN dalam menyebabkan apoptosis dengan berbagai mekanisme yang berbeda. Interferon juga dapat menstimulasi aktifitas *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL) yang berfungsi sebagai reseptor penghubung terjadinya kematian sel inang (Barber 2001). Sel yang mengalami nekrosis akan melepaskan komponen sitoplasmik ke dalam cairan ekstraselular yang akan merangsang terjadinya respon peradangan (Amarilyo et al. 2010).

Rue et al. (2011) melaporkan virus ND virulen yang mengkode gen protein V mampu menekan IFN tipe I. Hal ini menyebabkan sistem kekebalan non-spesifik tidak mampu merespon infeksi tersebut sehingga mengakibatkan penyakit yang parah pada

unggas. Pertahanan terhadap serangan virus akan digantikan oleh kekebalan spesifik (*adaptive immunity*) apabila kekebalan alami tidak mampu melawan infeksi virus ND. Respon kekebalan non-spesifik dan spesifik tidak dapat dipisahkan karena kedua respon ini saling melengkapi dalam melawan invasi virus ND. Hubungan antara respon kekebalan non-spesifik dan spesifik ditunjukkan dengan mekanisme makrofag sebagai APC yang berinteraksi dengan molekul dari antigen melalui TLR yang dimilikinya. Molekul antigen tersebut akan difagositosis dan difragmentasi kemudian disajikan kepada sel T. Interaksi antara patogen dan molekul antigen dapat mengaktifasi makrofag untuk memproduksi radikal nitrogen {*nitric oxide* (NO)} dan oksigen {*reactive oxygen intermediates* (ROI)} serta menginduksi ekspresi sitokin seperti IL1 β , IL-6, IL-8 dan *macrophage inflammatory protein* (MIP)-1 β . Reaksi ini selanjutnya akan mempengaruhi terjadinya aktifasi sel T. Begitu pula sebaliknya, aktifasi sel T akan menghasilkan sitokin yang akan mengaktifasi makrofag (He et al. 2011).

RESPON KEKEBALAN SPESIFIK

Sistem kekebalan spesifik terdiri dari kekebalan humoral atau *humoral mediated immunity* (HMI) dan kekebalan yang diperantara sel atau *cell mediated immunity* (CMI). Sistem ini merespon antigen secara spesifik melalui reaksi antigen dan antibodi, membentuk sel T dan sel B memori terhadap antigen pemaparnya. Sel-sel sistem imun yang bereaksi spesifik dengan antigen adalah limfosit B yang memproduksi antibodi dan limfosit T yang mengatur sintesis antibodi (Mazengia et al. 2009) maupun sel T yang mempunyai fungsi efektor atau sitotoksik langsung. Pembentukan antibodi diawali oleh makrofag yang telah memfragmentasi antigen kemudian fragmen antigen tersebut dipresentasikan kepada sel limfosit Th melalui MHC II yang terletak di permukaan makrofag. Sel Th berinteraksi dengan APC melalui CD4 dan TCR, kemudian sel Th teraktivasi dan berproliferasi serta mengeluarkan sitokin (IL-1) yang akan mengaktifkan sel B yang naiv menjadi sel plasma yang akan memproduksi antibodi spesifik terhadap antigen tersebut. Antibodi biasa disebut juga dengan *immunoglobulin* (Ig). Sinyal komponen dari *myeloid differentiation factor 88* (MyD88) dalam TLR5 dan reseptor IL-1 berkontribusi untuk mengatur respon kekebalan humoral (Letran et al. 2011).

Humoral mediated immunity

Antibodi yang disekresikan oleh sel plasma merupakan salah satu bagian yang berfungsi dalam

respon kekebalan spesifik humoral. Sel plasma yang mengandung imunoglobulin ditemukan dalam jumlah besar pada permukaan jaringan limfoid, MALT (Khan et al. 2008) dan *Harderian gland* ayam (Nasrin et al. 2013). Antibodi bersifat efektif mengeliminasi patogen ekstraseluler. Imunoglobulin (Ig) adalah glikoprotein yang mempunyai antibodi aktif serta ditemukan dalam darah, limpa dan jaringan vaskuler. Immunoglobulin ini dibentuk oleh empat rantai dasar yang terdiri dari dua rantai berat dan dua rantai ringan. Terdapat tiga kelas atau isotipe Ig yang ditemukan dalam sistem imun unggas yaitu IgM, IgY(G) dan IgA. IgM pada unggas mempunyai struktur dan fungsi yang sama dengan IgM pada mamalia (Choi et al. 2010). Tabel 2 menunjukkan perbedaan jenis dan fungsi Ig yang diproduksi unggas setelah kontak dengan antigen.

Kekebalan spesifik antara lain dapat dicapai melalui vaksinasi pada unggas. Program vaksinasi biasanya menghasilkan titer imunoglobulin atau antibodi yang protektif untuk melindungi unggas dari penyakit. Metode vaksinasi pada unggas terdiri dari dua jenis yaitu imunisasi aktif dan pasif (Tizard 2000). Imunisasi pasif memerlukan antibodi yang diproduksi oleh hewan donor yang sebelumnya diimunisasi aktif. Antibodi yang dihasilkan oleh hewan tersebut digunakan sebagai bahan imunisasi pasif untuk hewan yang peka terhadap penyakit tersebut. Respon kekebalan yang ditimbulkan bersifat sementara. Imunisasi aktif atau vaksinasi aktif yaitu memberikan antigen tertentu kepada hewan untuk membentuk kekebalan protektif terhadap penyakit tersebut (Islam 2013).

Metode imunisasi aktif dengan menggunakan virus ND hidup yang dilemahkan dan vaksin inaktif mampu menginduksi kekebalan protektif pada unggas. Pemberian vaksin ND *strain* avirulen mampu melindungi unggas yang peka terhadap penyakit ND dengan memproduksi antibodi (Jayawardane & Spradbow 1995). Uggas yang memperoleh vaksin ND hidup sudah dapat membentuk respon kekebalan spesifik satu hari pasca-vaksinasi tetapi unggas yang mendapat vaksin ND inaktif baru membentuk respon kekebalan spesifik pada hari ke-21 pasca-vaksinasi. Kedua tipe vaksin ND tersebut mampu melindungi unggas dari serangan penyakit ND. Sel plasma dari unggas yang divaksinasi ND mampu mensekresikan

IgY dan IgA pada mukosa trachea unggas (Zhao et al. 2012).

Kadar antibodi yang terbentuk dari unggas yang divaksinasi ND dengan vaksin hidup lebih rendah daripada kadar antibodi yang terbentuk dari unggas yang divaksinasi dengan vaksin ND inaktif. Vaksin ND hidup yang dilemahkan dan vaksin ND inaktif mampu menginduksi respon antibodi terhadap anti-NDV baik dalam serum maupun dalam sekresi jaringan trachea dan saluran pencernaan. Kedua jenis vaksin tersebut merangsang produksi IgG yang dihasilkan oleh sel plasma yang terdapat pada jaringan trachea dan saluran pencernaan (Chimeno Zoth et al. 2008). Xiao et al. (2009) melaporkan vaksinasi ayam dengan vaksin *live* ND melalui tetes mata mempunyai tingkat kekebalan yang efektif terhadap serangan virus ND. Strain virus vaksin *live* tersebut bereplikasi dengan cepat di membran mukosa konjungtiva, lubang hidung dan *Harderian gland* serta mampu menginduksi produksi antibodi IgA (Chansiripornchai & Sasipreeyajan 2006).

Maternal antibody yang terdapat dalam telur unggas dapat diklasifikasikan menjadi tiga yaitu IgY, IgA dan IgM. Imunoglobulin Y dapat ditemukan dalam kuning telur sedangkan IgA dan IgM berada dalam putih telur sebagai hasil dari sekresi mukosa *oviduct*. Perpindahan IgY dari kuning telur ke embrio melalui dua tahapan yaitu tahap pertama IgY diambil dari kuning telur oleh reseptor IgY pada folikel ovarium, selanjutnya tahap kedua IgY ditransfer ke embrio melalui saluran sirkulasi embrio. Jenis perlindungan ini termasuk dalam tipe kekebalan pasif karena antibodi diperoleh secara langsung dari induk yang mampu melindungi embrio dari berbagai macam infeksi penyakit. Efisiensi IgY dalam kuning telur telah dapat digunakan sebagai terapi aplikatif atau terapi kekebalan pasif untuk mencegah dan mengendalikan berbagai infeksi penyakit pada unggas (Yegani & Korver 2010). Terapi kekebalan terhadap virus ND dengan menggunakan IgY dalam kuning telur termasuk dalam metode imunisasi pasif.

Antibodi IgY ditransfer dari induk ke telur unggas kemudian disirkulasikan ke anak ayam yang baru menetas. Hiperimunisasi kuning telur pada ayam petelur yang divaksinasi virus ND yang dilemahkan menghasilkan titer antibodi yang tinggi dalam kuning telur. Titer antibodi akan meningkat jika imunisasi

Tabel 2. Karakteristik imunoglobulin pada unggas

	Imunoglobulin pada unggas		
	IgA	IgY(G)	IgM
Fungsi	Bersirkulasi dalam waktu lama	Perlindungan awal	Kekebalan mukosa
Respon setelah kontak dengan antigen	3-7 hari	2-5 hari	3-7 hari
Waktu untuk mencapai kadar maksimum	18-23 hari	5 hari	5-7 hari

Sumber: Trenchi (2013)

pada ayam petelur diulang. Pengulangan atau *booster* imunisasi ND hidup yang dilemahkan mampu memberikan titer antibodi IgY yang baik dalam kuning telur. Kuning telur yang mengandung titer antibodi ND mampu memberikan tingkat proteksi sebanyak 80% pada unggas dari serangan virus ND (Al-Zubeedy & Al-Attar 2012).

Kombinasi vaksin ND *live* dan inaktif mampu merangsang terbentuknya respon kekebalan humoral. Sel lamina propria saluran pencernaan unggas yang divaksinasi kombinasi ND hidup dan *adjuvant* melalui tetes mulut akan mensekresikan IgA dalam jumlah besar. Imunoglobulin A merupakan molekul yang sangat penting dalam melindungi permukaan mukosa (Zhang et al. 2012). Respon kekebalan seluler dan humoral timbul setelah dua sampai dengan tiga hari pasca-vaksinasi ND tetapi respon kekebalan seluler hanya berperan kecil pada ayam yang divaksinasi ND (Al-Shahery et al. 2008).

Cell mediated immunity

Kekebalan yang diperantara sel *Cell mediated immunity* (CMI) efektif melawan infeksi yang terjadi di dalam sel (intra sel). Kekebalan CMI bekerja dengan cara menghancurkan sel yang terinfeksi virus atau masuk ke dalam sel untuk menghilangkan antigen virus. Sel limfosit T adalah antigen spesifik dalam respon CMI dan mampu melawan infeksi patogen secara luas. Semua sel T mengekspresikan CD3 kompleks pada permukaan selnya serta terpisah dari reseptor sel T. *Receptor cell T* (TCR) pada sel limfosit T diperlukan pada awal interaksi dengan antigen. *Receptor cell T* pada sel T hanya bersifat spesifik pada komponen protein tertentu pada antigen (antigen-peptida). *Receptor cell T* hanya berinteraksi dengan antigen-peptida yang diekspresikan oleh APC bersama dengan molekul MHC II (Moon et al. 2007).

Sel limfosit T terdiri dari subset sel limfosit T *helper* (Th) dan T *cytotoxic* (Tc). Sitokin yang diseikresi dari sel T *helper* CD4+ dan sel T *cytotoxic* CD8+ merupakan prinsip utama respon CMI. *Cytotoxic* limfosit T atau CD8+ terdapat pada permukaan sel T serta berperan dalam melisiskan sel yang terinfeksi virus atau tumor sel (Ravindra et al. 2009). *Cytotoxic* limfosit T berikatan dengan antigen-peptida memerlukan molekul MHC I. Molekul MHC I terdapat pada permukaan sel. Ikatan kompleks (TCR, antigen-peptida dan MHC I) serta signal yang ditimbulkan oleh T *helper* I diperlukan untuk mengaktifasi sel T *cytotoxic* berikatan dengan sel target (Fung-Leung et al. 1991). Sel T *helper* atau CD4+ berperan dalam regulasi kekebalan humoral dan CMI. Sel T *helper* berfungsi mengaktifkan makrofag dengan mensekresikan sitokin serta menstimulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel B (He et al. 2011; Letran et al. 2011).

Sel T *helper* CD4+ dibagi menjadi dua subset, tergantung pada tipe sitokin yang dihasilkannya yaitu T *helper* 1 (Th1) dan T *helper* 2 (Th2). Subset Th1 lebih berperan penting dalam CMI, serta juga membantu sel B untuk memproduksi IFN- γ dan interleukin (IL)-2. Subset Th2 lebih banyak memproduksi IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10, serta membantu sel B untuk menghasilkan semua tipe imunoglobulin termasuk IgA. Sitokin Th2 menstimulasi ekspresi IgA oleh permukaan sel B yang positif terhadap IgA serta perkembangan dan pematangan sel plasma yang mensekresikan IgA. Sel T yang ditemukan pada jaringan limfoid mukosa termasuk Th2 sitokin (Xu-Amano et al. 1994). Subset limfosit T CD8 terutama berperan melisiskan sel melalui respon sitokin. Subset limfosit T CD4 dapat menghasilkan beberapa respon sitokin terhadap stimulasi antigen (Arstila et al. 1994).

Stimulasi respon CMI yang disebabkan infeksi virus ND dapat dideteksi 2-3 hari pasca-infeksi (Al-Shahery et al. 2008). Respon CMI pada unggas dapat diperoleh melalui vaksinasi ND. Sel Th-1 dan ekspresi IL-18 dapat dideteksi pada hari ketiga pasca-vaksinasi ND inaktif. Sel IL-18 mampu menginduksi ekspresi sitokin IL-4 dan IFN- γ yang berperan penting dalam respon kekebalan Th-1 (Rahman et al. 2013). Respon CMI lebih cepat muncul pada unggas yang divaksinasi dengan vaksin virus ND hidup (Reynolds & Maraqa 2000). Respon kekebalan seluler menunjukkan bahwa ekspresi mRNA menjadi lebih cepat dan sensitif setelah diberikan kombinasi vaksin ND hidup dan *adjuvant* alami. IL-2 mRNA terbentuk dalam kadar yang sangat tinggi sedangkan IFN- γ mRNA hanya dapat dideteksi pada awal vaksinasi ND (Zhang et al. 2012). Hasil penelitian Khalifeh et al. (2009) juga menunjukkan bahwa kombinasi vaksin hidup dan inaktif ND mampu meningkatkan respon IFN- γ pada awal vaksinasi.

Lambrecht et al. (2004) melaporkan respon CMI lebih tinggi oleh vaksin ND hidup daripada vaksin ND inaktif. Vaksin ND hidup merangsang keberadaan MHC I (CD8+) dan II (CD4+) di inang, sedangkan vaksin ND infaktif mempunyai waktu yang lebih lama untuk menstimulasi respon CMI. Respon CMI yang diperoleh dari vaksin inaktif distimulasi oleh keberadaan sel Th CD4+ dan MHC II serta sitokin yang diseikresikannya untuk mengatur pembentukan antibodi. Respon imun seluler mencapai puncaknya setelah tiga minggu pasca-vaksinasi ND (Liu et al. 2008).

Apabila salah satu tipe limfosit distimulasi oleh antigen maka proliferasi dan diferensiasi sel limfosit terjadi dalam sel efektor dan sel memori. Sel ini berdiferensiasi dengan cepat dalam sel efektor untuk melawan antigen. Produksi sel memori yang spesifik terhadap antigen merupakan awal pertahanan terhadap infeksi serta konsep vaksinasi (Scott & Owens 2008).

Proliferasi sel T memori yang spesifik terhadap antigen ND lebih banyak daripada sel T memori yang tidak spesifik terhadap antigen ND setelah distimulasi dengan antigen ND. Sel T CD4 dan CD8 berproliferasi pada kadar rendah sampai sedang dalam merespon antigen spesifik ND (Norup et al. 2011). Sel Th1 memori spesifik terhadap antigen ND mengekspresi sitokin IL-4 dan IFN- γ dalam jumlah lebih besar dari pada sel Th 1 naiv (Rahman et al. 2013).

KESIMPULAN

Organ limfoid pada sistem kekebalan unggas terdiri dari organ limfoid primer dan sekunder. Timus, sumsum tulang dan *bursa fabricius* termasuk organ limfoid primer sedangkan limpa, *mucosal associated lymphoid tissue*, limfonodus dan *germinal center* termasuk organ limfoid sekunder. Sistem kekebalan unggas dalam melawan infeksi virus ND terdiri dari sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik. Invasi virus ND menimbulkan respon kekebalan non-spesifik dengan memproduksi sitokin seperti IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IL-1 dan IL-6 pada organ limfoid unggas. Respon kekebalan spesifik pada unggas yang terinfeksi virus ND adalah kekebalan humoral (HMI) dan kekebalan yang diperantarai sel (CMI). Respon kekebalan seluler dan humoral timbul setelah dua sampai dengan tiga hari pasca-terpapar antigen ND, tetapi respon kekebalan seluler hanya berperan kecil pada unggas yang terpapar antigen ND. Respon kekebalan seluler mampu menstimulasi keberadaan MHC I (CD8+) dan MHC II (CD4+) pada unggas yang terpapar antigen ND. Interaksi yang terjadi antara respon kekebalan non-spesifik dan spesifik saling melengkapi dalam melawan invasi virus ND pada unggas.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed KA, Saxena VK, Ara A, Singh KB, Sundaresan NR, Saxena M, Rasool TJ. 2007. Immune response to Newcastle disease virus in chicken lines divergently selected for cutaneous hypersensitivity. *Int J Immunogenet.* 34:445-455.
- Alexander DJ, Senne DA. 2008. Newcastle Disease, other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections. In: Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE, editors. *Dis Poult.* 12th ed. Iowa (US): Iowa State University Press. p. 75-116.
- Al-Shahery MN, Al-Zubedy AZ, Al-Baroodi SY. 2008. Evaluation of cell mediated immune response in chickens vaccinated with new castle disease virus. *Iraqi J Vet Sci.* 22:21-24.
- Al-Zubeedy AZ, Al-Attar MY. 2012. Effect of hyperimmunized egg yolk on maternal immunity of Newcastle disease vaccine in broiler chicks. *Iraqi J Vet Sci.* 26:35-38.
- Amarilyo G, Verbovetski I, Atallah M, Grau A, Wiser G, Gil O, Ben-Neriah Y, Mevorach D. 2010. iC3b-opsonized apoptotic cells mediate a distinct anti-inflammatory response and transcriptional NF- κ B-dependent blockade. *Eur J Immunol.* 40:699-709.
- Arstila TP, Vainio O, Lassila O. 1994. Central role of Cd4+ T-Cells in avian immune-response. *Poult Sci.* 73:1019-1026.
- Barber GN. 2001. Host defense, viruses and apoptosis. *Cell Death Differ.* 8:113-126.
- Bouzari M, Spardbrow P. 2006. Early events following oral administration of Newcastle disease virus strain V4. *J Poult Sci.* 43:408-414.
- Brown C, King DJ, Seal BS. 1999. Pathogenesis of Newcastle disease in chickens experimentally infected with viruses of different virulence. *Vet Pathol.* 36:125-132.
- Chimeno Zoth S, Gómez E, Carrillo E, Berinstein A. 2008. Locally produced mucosal IgG in chickens immunized with conventional vaccines for Newcastle disease virus. *Brazilian J Med Biol Res.* 41:318-323.
- Chansiripornchai N, Sasipreeyajan J. 2006. Efficacy of live B1 or Ulster 2C Newcastle disease vaccines simultaneously vaccinated with inactivated oil adjuvant vaccine for protection of Newcastle disease virus in broiler chickens. *Acta Vet Scand.* 48:2
- Choi JW, Kim J-K, Seo HW, Cho BW, Song G, Han JY. 2010. Molecular cloning and comparative analysis of immunoglobulin heavy chain genes from *Phasianus colchicus*, *Meleagris gallopavo* and *Coturnix japonica*. *Vet Immunol Immunopathol.* 136:248-256.
- Ciriaco E, Píñera PP, Díaz-Esnal B, Laurà R. 2003. Age-related changes in the avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of fabricius). *Microsc Res Tech.* 62:482-487.
- Courtney SC, Susta L, Gomez D, Hines NL, Pedersen JC, Brown CC, Miller PJ, Afonso CL. 2013. Highly divergent virulent isolates of Newcastle disease virus from the Dominican Republic are members of a new genotype that may have evolved unnoticed for over 2 decades. *J Clin Microbiol.* 51:508-517.
- Crespo R, Yamashiro S, Hunter DB. 1998. Development of the thoracic air sacs of turkeys with age and rearing concitions. *Avian Dis.* 42:35-44.
- Dharmayanti NLPI, Hartawan R, Hewajuli DA, Indriani R. 2014. Phylogenetic analysis of genotype VII of new castle diseases virus in Indonesia. *African J Microbiol Res.* 8:1368-1374.
- Fagerland JA, Arp LH. 1993. Distribution and quantitation of plasma cells, T lymphocyte subsets and B lymphocytes in bronchus-associated lymphoid tissue of chickens: Age-related differences. *Reg Immunol.* 5:28-36.

- Fang J, Peng X. 2014. Developmental changes in cell proliferation and apoptosis in the normal duck bursa of fabricius. *J Vet Sci.* 15:465-474.
- Ferdous F, Maurice D, Scott T. 2008. Broiler chick thrombocyte response to lipopolysaccharide. *Poult Sci.* 87:61-63.
- Ferreira L, Villar E, Muñoz-Barroso I. 2004. Gangliosides and N-glycoproteins function as Newcastle disease virus receptors. *Int J Biochem Cell Biol.* 36:2344-2356.
- Fogg DK, Sibon C, Miled C, Jung S, Aucouturier P, Littman DR, Cumano A, Geissmann F. 2006. A clonogenic bone marrow progenitor specific for macrophages and dendritic cells. *Science.* 311:83-87.
- Fournier P, Wilden H, Schirrmacher V. 2012. Importance of retinoic acid-inducible gene I and of receptor for type I interferon for cellular resistance to infection by Newcastle disease virus. *Int J Oncol.* 40:287-298.
- Fung-Leung WP, Schilham MW, Rahemtulla A, Kündig TM, Vollenweider M, Potter J, van Ewijk W, Mak TW. 1991. CD8 is needed for development of cytotoxic T cells but not helper T cells. *Cell.* 65:443-449.
- Gómez Del Moral M, Fonfría J, Varas A, Jiménez E, Moreno J, Zapata AG. 1998. Appearance and development of lymphoid cells in the chicken (*Gallus gallus*) caecal tonsil. *Anat Rec.* 250:182-189.
- Grzywacz B, Kataria N, Kataria N, Blazar BR, Miller JS, Verneris MR. 2011. Natural killer-cell differentiation by myeloid progenitors. *Blood.* 117:3548-3558.
- Hayter RB, Besch EL. 1974. Airborne particle deposition in the respiratory tract of chickens. *Poult Sci.* 53:1507-1511.
- He H, MacKinnon KM, Genovese KJ, Kogut MH. 2011. CpG oligodeoxynucleotide and double-stranded RNA synergize to enhance nitric oxide production and mRNA expression of inducible nitric oxide synthase, pro-inflammatory cytokines and chemokines in chicken monocytes. *Innate Immun.* 17:137-144.
- Heiser RA, Christopher M, Snyder CM, St. Clair J, Wysocki LJ. 2011. Aborted germinal center reactions and B cell memory by follicular T cells specific for a B cell receptor V region peptide. *J Immunol.* 187:212-221.
- Houston EG, Nechanitzky R, Fink PJ. 2008. Cutting edge: Contact with secondary lymphoid organs drives postthymic T cell maturation. *J Immunol.* 181:5213-5217.
- Hu Z, Hu J, Hu S, Liu X, Wang X, Zhu J, Liu X. 2012. Strong innate immune response and cell death in chicken splenocytes infected with genotype VIId Newcastle disease virus. *Virol J.* 9:1-7.
- Igbokwe CO, Abah FC. 2009. Comparative studies on the morphology and morphometry of the meckel's diverticulum in the Nigerian local chicken (*Gallus domesticus*) and exotic broiler. *Anim Sci Report.* 3:103-109.
- Imhof BA, Dunon D, Courtois D, Luhtala M, Vainio O. 2000. Intestinal CD8aa and CD8ab intraepithelial lymphocytes are thymus derived and exhibit subtle differences in TCR β repertoires. *J Immunol.* 165:6716-6722.
- Iorio RM, Melanson VR, Mahon PJ. 2009. Glycoprotein interactions in paramyxovirus fusion. *Futur Virol.* 4:335-351.
- Islam S. 2013. Clinical evaluation of hyperimmune serum for the treatment of newcastle disease in indigenous layer birds [Thesis]. [Dacca (Bangladesh): Bangladesh Agricultural University.
- Janardhana V, Broadway MM, Bruce MP, Lowenthal JW, Geier MS, Hughes RJ, Bean AGD. 2009. Prebiotics modulate immune responses in the gut-associated lymphoid tissue of chickens. *J Nutr.* 139:1404-1409.
- Jayawardane GW, Spradbow PB. 1995. Mucosal immunity in chickens vaccinated with the V4 strain of Newcastle disease virus. *Vet Microb.* 46:69-77.
- Juul-Madsen HR, Viertlboeck B, Smith AL, Göbel TWF. 2008. Avian innate immune responses. In: Davison F, Kaspers B, Schat KA, editors. *Avian Immunol.* California (US): Academic Press is an imprint of Elsevier. p. 13-50.
- Khalifeh MS, Amawi MM, Abu-Basha EA, Yonis IB. 2009. Assessment of humoral and cellular-mediated immune response in chickens treated with tilmicosin, florfenicol, or enrofloxacin at the time of Newcastle disease vaccination. *Poult Sci.* 88:2118-2124.
- Khan MZI, Akter SH, Islam MN, Karim MR, Islam MR, Kon Y. 2008. The effect of selenium and vitamin E on the lymphocytes and immunoglobulin-containing plasma cells in the lymphoid organ and mucosa-associated lymphatic tissues of broiler chickens. *Anat Histol Embryol.* 37:52-59.
- Khan MZI, Jahan MR, Islam MN, Haque Z, Islam MR, Kon Y. 2007. Immunoglobulin (Ig)-containing plasma cells in the Harderian gland in broiler and native chickens of Bangladesh. *Tissue Cell.* 39:141-149.
- Kothlow S, Kaspers B. 2008. The avian respiratory immune system. In: Davison F, Kaspers B, Schat KA, editors. *Avian immunology.* California (US): Academic Press. p. 13-50.
- Kovacic B, Hoelbl-Kovacic A, Fishchhuber KM, Leitner NR, Gotthardt D, Casanova E, Sexl V, Muller M. 2014. Lactotransferrin-Cre reporter mice trace neutrophils, monocytes/macrophages and distinct subtypes dendritic cell. *Haematologica.* 99:1006-1014.
- Lamb RA, Collins PL, Kolakofsky D, Melero JA, Nagai Y, Oldstone MBA, Pringle CR, Rima BK. 2005. Family paramyxoviridae. In: Fauquet CM, editor. *Virus taxonomy: The classification and nomenclature of viruses. The eighth report of the international committee on taxonomy of viruses.* California (US): Elsevier Academic Press. p. 655-668.

- Lambrecht B, Gonze M, Meulemans G, van den Berg TP. 2004. Assessment of the cell-mediated immune response in chickens by detection of chicken interferon-gamma in response to mitogen and recall Newcastle disease viral antigen stimulation. *Avian Pathol.* 33:343-350.
- Leena C, Prasad R V, Kakade K, Jamuna K V. 2012. Age related changes in the histology of the bursa of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *J Vet Anim Sci.* 43:45-48.
- Letran SE, Lee SJ, Atif SM, Uematsu S, Akira S, McSorley SJ. 2011. TLR5 functions as an endocytic receptor to enhance flagellin-specific adaptive immunity. *Eur J Immunol.* 41:29-38.
- Li K, Sun GR, Kang XT, Li CL, Liu Y, Liu ZH, Li M, Wang YC. 2008. Dynamic changes for cell proliferation in immune organs of Gushi chickens. *Chin J Vet Sci.* 8:953-956.
- Liu K, Victora GD, Schwickert TA, Guermonprez P, Meredith MM, Yao K, Chu FF, Randolph GJ, Rudensky AY, Nussenzweig M. 2009. *In vivo* analysis of dendritic cell development and homeostasis. *Science.* 324:392-397.
- Liu RS, Xue ZL, Zhang SB, Wang BH. 2008. Adjuvant effect of Chinese retard compound medicine on the immune response to ND vaccination. *Chin J Vet Med.* 44:27-28.
- Masum MA, Khan MZI, Nasrin M, Siddiqi MNH, Khan MZI, Islam MN. 2014. Detection of immunoglobulins containing plasma cells in the thymus, bursa of fabricius and spleen of vaccinated broiler chickens with Newcastle disease virus vaccine. *International J Vet Sci Med.* 2:103-108.
- Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. 2012. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature.* 489:231-241.
- Mazengia H, Gelaye E, Nega M. 2009. Evaluation of newcastle disease antibody level after different vaccination regimes in three districts of Amhara Region, Northwestern Ethiopia. *J Infect Dis Immun.* 1:16-19.
- Moon JJ, Chu HH, Pepper M, McSorley SJ, Jameson SC, Kedl RM, Jenkins MK. 2007. Naive CD4+ T cell frequency varies for different epitopes and predicts repertoire diversity and response magnitude. *Immunity.* 27:203-213.
- Muir WI, Bryden WL, Husband AJ. 2000. Investigation of the site of precursors for IgA-producing cells in the chicken intestine. *Immunol Cell Biol.* 78:294-296.
- Nasrin M, Khan MZI, Siddiqi MNH, Masum MA. 2013. Mobilization of immunoglobulin (Ig)-containing plasma cells in harderian gland, cecal tonsil and trachea of broilers vaccinated with Newcastle disease vaccine. *Tissue Cell.* 45:191-197.
- Nasser M, Lohr JE, Mebratu GY, Zessin KH, Baumann MP, Ademe Z. 2000. Oral Newcastle disease vaccination trials in Ethiopia. *Avian Pathol.* 29:27-34.
- Nganpiep LN, Maina JN. 2002. Composite cellular defence stratagem in the avian respiratory system: Functional morphology of the free (surface) macrophages and specialized pulmonary epithelia. *J Anat.* 200:499-516.
- Norup LR, Dalgaard TS, Pedersen AR, Juul-Madsen HR. 2011. Assessment of Newcastle disease-specific T cell proliferation in different inbred MHC chicken lines. *Scand J Immunol.* 74:23-30.
- Oláh I, Glick B, Taylor RL. 1984. Meckel's diverticulum. II. A novel lymphoepithelial organ in the chicken. *Anat Rec.* 208:253-263.
- Oláh I, Nagy N, Magyar A, Palya V. 2003. Esophageal tonsil: a novel gut-associated lymphoid organ. *Poult Sci.* 82:767-770.
- Oláh I, Vervelde L. 2008. Structure of the avian lymphoid system. In: Davison F, Kaspers B, Schat KA, editors. *Avian Immunol.* California (US): Academic Press is an imprint of Elsevier. p. 13-50.
- Peeters B, Verbruggen P, Nelissen F, de Leeuw O. 2004. The P gene of Newcastle disease virus does not encode an accessory X protein. *J Gen Virol.* 85:2375-2378.
- Piacenti AM, King DJ, Seal BS, Zhang J, Brown CC. 2006. Pathogenesis of Newcastle disease in commercial and specific pathogen-free turkeys experimentally infected with isolates of different virulence. *Vet Pathol.* 43:168-178.
- Qureshi MA, Heggen CL, Hussain I. 2000. Avian macrophage: Effector function in health and diseases. *Dev Comp Immunol.* 24:103-119.
- Rahman MM, Uyangaa E, Eo SK. 2013. Modulation of humoral and cell-mediated immunity against Avian Influenza and Newcastle disease vaccines by oral administration of *Salmonella enterica* serovar typhimurium expressing chicken interleukin-18. *Immune Netw.* 13:34-41.
- Ravindra PV, Tiwari AK, Ratta B, Bais MV, Chaturvedi U, Palia SK, Sharma B, Chauhan RS. 2009. Time course of Newcastle disease virus-induced apoptotic pathways. *Virus Res.* 144:350-354.
- Reynolds DL, Maraqa a D. 2000. Protective immunity against Newcastle disease: The role of cell-mediated immunity. *Avian Dis.* 44:145-154.
- Rout SN, Samal SK. 2008. The large polymerase protein is associated with the virulence of Newcastle disease virus. *J Virol.* 82:7828-7836.
- Rue CA, Susta L, Cornax I, Brown CC, Kapczynski DR, Suarez DL, King DJ, Miller PJ, Afonso CL. 2011. Virulent Newcastle disease virus elicits a strong innate immune response in chickens. *J Gen Virol.* 92:931-939.

- Sa'idu L, Abdu PA. 2008. Outbreak of viscerotropic velogenic form of Newcastle disease in vaccinated six weeks old pullets. Sokoto J Vet Sci. 7:37-40.
- Sakaguchi T, Matsuda Y, Kiyokane R, Kawahara N, Kiyotani K, Katuruma N, Nagai Y, Yoshida T. 1991. Identification of endoprotease activity in the trans Golgi membranes of rat liver cells that specifically processes *in vitro* the fusion glycoprotein precursor of virulent Newcastle disease virus. Virology. 184:504-512.
- San Roman K, Villar E, Munoz-Barroso I. 1999. Acidic pH enhancement of the fusion of Newcastle disease virus with cultured cell. Virology. 260:329-341.
- Sánchez-Felipe L, Villar E, Muñoz-Barroso I. 2014. Entry of Newcastle disease virus into the host cell: Role of acidic pH and endocytosis. Biochim Biophys Acta. 1838:300-309.
- Scott T, Owens MD. 2008. Thrombocytes respond to lipopolysaccharide through Toll-like receptor-4 and MAP kinase and NF- κ B pathways leading to expression of interleukin-6 and cyclooxygenase-2 with production of prostaglandin E2. Mol Immunol. 45:1001-1008.
- Timmermans K, Plantinga TS, Kox M, Vaneker M, Scheffer GJ, Adema GJ, Joosten LAB, Netea MG. 2013. Blueprints of signaling interactions between pattern recognition receptors: Implications for the design of vaccine adjuvants. Clin Vaccine Immunol. 20:427-432.
- Tizard IR. 2000. Vaccinations and vaccines. In: Veterinary immunology an introduction. 6th ed. Philadelphia (US): WB Saunders Company. p. 239-241.
- Treesh SA, Baker AO, Khair NS. 2014. Histological, histochemical and immunohistochemical studies on thymus of chicken. Int J Histol Cytol. 1:103-111.
- Trenchi H. 2013. Immunology and disease prevention in poultry. Lohamann Inf. 48:17-22.
- Wakamatsu N, King DJ, Seal BS, Peeters BP, Brown CC. 2006a. The effect on pathogenesis of Newcastle disease virus LaSota strain from a mutation of the fusion cleavage site to a virulent sequence. Avian Dis. 50:483-488.
- Wakamatsu N, King DJ, Seal BS, Samal SK, Brown CC. 2006b. The pathogenesis of Newcastle disease: A comparison of selected Newcastle disease virus wild-type strains and their infectious clones. Virology. 353:333-343.
- Wakamatsu N, King DJ, Kapczynski DR, Seal BS, Brown CC. 2006c. Experimental pathogenesis for chickens, turkeys and pigeons of exotic Newcastle disease virus from an outbreak in California during 2002-2003. Vet Pathol. 43:925-933.
- Wu B, Cui H, Peng X, Fang J, Cui W, Liu X. 2013. Pathology of bursae of fabricius in methionine-deficient broiler chickens. Nutrients. 5:877-886.
- Xiao C, Bao G, Hu S. 2009. Enhancement of immune responses to Newcastle disease vaccine by supplement of extract of *Momordica cochinchinensis* (Lour) spreng seeds. Poult Sci. 88:2293-2297.
- Xu-Amano J, Jackson RJ, Fujihashi K, Kiyono H, Staats HF, McGhee JR. 1994. Helper Th1 and Th2 cell responses following mucosal or systemic immunization with cholera toxin. Vaccine. 12:903-911.
- Yegani M, Korver DR. 2010. Application of egg yolk antibodies are replacement for antibiotics in poultry. Worlds Poult Sci J. 66:27-38.
- Yusoff K, Tan WS. 2001. Newcastle disease virus: macromolecules and opportunities. Avian Pathol. 30:439-455.
- Zhang D, Shi W, Zhao Y, Zhong X. 2012. Adjuvant effects of sijunzi decoction in chickens orally vaccinated with attenuated Newcastle disease vaccine. African J Tradit Complement Altern Med. 9:120-130.
- Zhao K, Chen G, Shi X ming, Gao T ting, Li W, Zhao Y, Zhang F qiang, Wu J, Cui X, Wang YF. 2012. Preparation and efficacy of a live Newcastle disease virus vaccine encapsulated in chitosan nanoparticles. PLoS One. 7:1-10.