

# DETEKSI IMUNOSUPRESI AKIBAT INFEKSI *TRYPANOSOMA EVANSI* DAN MALNUTRISI PADA HEWAN PERCOBAAN KERBAU DENGAN SENSITISASI KULIT

S. PARTOUTOMO

Balai Penelitian Veteriner  
Jalan R.E. Martadinata 30, P.O. Box 151, Bogor 16114, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 21 Januari 2000)

## ABSTRACT

PARTOUTOMO, S. 1999. Detection of immunosuppression caused by *Trypanosoma evansi* infection and malnutrition in experimental buffaloes with skin sensitisation tests. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 5(2)

The main impacts of *T. evansi* infection in cattle and buffaloes include weight losses, deaths, and reduction of productivity, moreover immunosuppressive conditions as a result of this parasite infection are commonly found. Dinitrochlorobenzene skin contact sensitisation (DNCB), phytohaemagglutinin skin (PHA) and homologous passive cutaneous anaphylaxis (HPCA) tests have been used for diagnosis of immunosuppression in man. The purposes of these experiments were to detect immunosuppression caused by *T. evansi* infection and malnutrition in normal and malnutrition buffaloes. Sixteen male and female buffaloes, 12-18 months of ages were divided into 4 groups, Group<sub>1</sub> fed with high grade of ration and infected with *T. evansi*, Group<sub>2</sub> fed with high grade of ration not infected, Group<sub>3</sub> fed with low grade of ration and infected with *T. evansi*, and Group<sub>4</sub> fed with low grade of ration and not infected. Buffaloes fed with high grade of ration are assumed as normal animals, while buffaloes fed with low grade of ration are assumed as malnutrition animals. These buffaloes were kept in fly proof fences in the Research Institute for Veterinary Science, Bogor. The experimental results indicated that normal buffaloes produced significantly ( $P < 0,05$ ) wider and thicker inflammation areas in DNCB and PHA test respectively than malnutrition and *T. evansi* infected buffaloes one week after *T. evansi* infection. The widest skin reaction of  $33 \pm 4.7$  mm<sup>2</sup> in DNCB and the thickest skin reaction of  $45 \pm 1,0$  in PHA test was obtained in 24 hours after DNCB challenge or PHA injection. Thereafter both DNCB and PHA test showed the reduction of the skin reactions, however they were still positive in 48 hours and becoming negative in 72 hours later. PHA test was able to differentiate the intensity of either the combined effects of malnutrition and *T. evansi* infection, *T. evansi* infection, or malnutrition alone. HPCA test showed inconsistent results.

Keys words : *Trypanosoma evansi*, immunosuppression, DNCB, PHA, HPCA

## ABSTRAK

PARTOUTOMO, S. 1999. Deteksi imunopresi akibat infeksi *Trypanosoma evansi* dan malnutrisi pada hewan percobaan kerbau dengan sensitisasi kulit. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 5(2)

Infeksi *T. evansi* pada sapi dan kerbau selain berakibat penurunan bobot badan, kematian, dan menurunnya daya reproduksi juga berakibat terjadinya keadaan yang disebut imunopresi atau suatu keadaan dimana respon sel-T terhadap antigen menjadi kurang reaktif. Dalam penelitian ini *dinitrochlorobenzene skin contact sensitisation test* (uji DNCB), *phytohaemagglutinin skin test* (uji PHA), dan *homologous passive cutaneous anaphylaxis test* (uji HPCA) dicoba digunakan untuk mendeteksi imunopresi yang disebabkan oleh infeksi *T. evansi* pada kerbau normal dan malnutrisi. Dalam penelitian ini digunakan 16 ekor kerbau, umur 12-18 bulan, kelamin jantan dan betina. Kerbau dibagi menjadi 4 grup, Grup<sub>1</sub> diberi ransum berkualitas tinggi dan diinfeksi dengan *T. evansi*, Grup<sub>2</sub> diberi ransum berkualitas tinggi dan tidak diinfeksi, Grup<sub>3</sub> diberi ransum berkualitas rendah diinfeksi dan Grup<sub>4</sub> diberi ransum berkualitas rendah dan tidak diinfeksi. Kerbau yang diberi ransum berkualitas tinggi diasumsikan sebagai hewan normal, sedang kerbau yang diberi ransum berkualitas rendah diasumsikan sebagai hewan malnutrisi. Tiga hari sebelum diinfeksi dengan *T. evansi* hewan percobaan disensitisasi dengan mengoleskan larutan DNCB pada kulit, 7 hari sesudah infeksi hewan ditantang dengan cara yang sama seperti pada sensitisasi. Sebagaimana biasanya hewan normal akan memberikan reaksi DNCB positif dengan timbulnya reaksi peradangan pada kulit yang secara kuantitatif dapat diukur. Uji PHA dilakukan dengan menginjektikan larutan PHA ke dalam kulit, pertambahan tebal kulit sebagai reaksi terhadap PHA diukur dengan alat pengukur tebal kulit. Uji HPCA dilakukan dengan menginjektikan vaksin ovalbumin ke dalam pembuluh darah vena kerbau percobaan 14 hari sebelum diinfeksi dengan *T. evansi*, kemudian serum sampel dikoleksi setiap minggu. Reaksi HPCA dibuat dengan menginjektikan serum sampel ke dalam kulit kerbau *albino* percobaan dengan berbagai pengenceran. Setelah itu 60-72 jam kemudian kerbau diinjeksi dengan 80 ml ovalbumin 5% yang telah dicampur dengan 20 ml *Evans blue* 2,5% ke dalam vena, kerbau normal memberikan reaksi positif dengan ditandai timbulnya radang kulit yang berwarna biru yang dapat dibaca 1-2 menit sesudah diinjeksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kerbau normal memberikan reaksi radang pada kulit yang secara nyata ( $P < 0,05$ ) lebih luas pada uji DNCB dan lebih tebal pada uji PHA dibandingkan pada kerbau yang malnutrisi atau yang diinfeksi dengan *T. evansi* satu minggu setelah diinfeksi. Reaksi tertinggi sebesar  $33 \pm 4,7$

mm<sup>2</sup> untuk DCCB dan 45 ± 1,0 mm untuk uji PHA dicapai 24 jam setelah ditantang dengan DNCB atau diinjeksi dengan PHA. Setelah itu reaksi menjadi menurun tetapi masih positif hingga 48 jam dan menjadi negatif dalam waktu 72 jam. Uji DNCB dan PHA dapat mendeteksi imunosupresi akibat malnutrisi dan infeksi *T. evansi*, disamping itu uji PHA lebih sensitif dan lebih sederhana daripada uji DNCB. Hasil uji HPCA menunjukkan beberapa serum dengan pengenceran tertentu bereaksi positif, tetapi tidak konsisten.

Kata kunci : *Trypanosoma evansi*, immunosuppression, DNCB, PHA, HPCA

## PENDAHULUAN

Trypanosomiasis yang disebabkan oleh *Trypanosoma evansi* telah tersebar di hampir seluruh wilayah Indonesia dan beberapa jenis hewan seperti kuda, sapi, kerbau dan anjing merupakan hewan yang dilaporkan banyak terserang (PARTOUTOMO, 1995). Kerugian akibat infeksi *T. evansi* adalah berupa penurunan bobot badan, kematian dan daya reproduksi yang rendah (LUCKINS, 1996). Selain dari itu, infeksi trypanosoma dilaporkan dapat menimbulkan imunosupresi, atau *decreased immune responsiveness*, atau disebut juga keadaan anergi klinis (MACKENZIE *et al.*, 1979). Apabila hewan berada di dalam keadaan imunosupresi kemudian diinjeksi dengan vaksin, misalnya vaksin terhadap penyakit ngorok, maka hewan yang bersangkutan akan memberi respon kekebalan yang rendah (IKEME *et al.*, 1984). Beberapa hasil penelitian telah melaporkan tentang terjadinya kegagalan vaksinasi pada hewan yang sedang berada dalam keadaan imunosupresi. Mencit yang diinfeksi dengan *T. brucei* kemudian diinjeksi dengan vaksin *lymphocytic choriome-ningitis*, kemudian diinfeksi dengan virus hidup biang vaksin menunjukkan gejala klinis sakit, sedangkan mencit normal yang diinjeksi dengan vaksin yang sama setelah diinfeksi dengan virus homolog tetap sehat (REID *et al.*, 1979). Kejadian yang sama juga dilaporkan pada tikus besar (*rat*) yang diinjeksi dengan vaksin poliartiritis, tikus yang mendapat infeksi *T. brucei* sebelum diinjeksi vaksin menunjukkan gejala klinis sakit, sedangkan tikus yang tidak mendapat infeksi *T. brucei* sebelum diinjeksi vaksin setelah ditantang dengan virus homolog tetap sehat (MACKENZIE *et al.*, 1979). Sapi yang mendapat infeksi dengan *T. congolense* kemudian diinjeksi dengan vaksin antikostridia polivalen menunjukkan terjadinya depresi terhadap respon kekebalan anamnistiknya (HOLMES *et al.*, 1974).

Mekanisme terjadinya imunosupresi masih terdapat beberapa teori, antara lain dikatakan bahwa imunosupresi terjadi karena timbulnya sel-sel T yang bertindak sebagai supresor (ROELANT *et al.*, 1979), karena aktivasi dari sel-sel B poliklonal (MITRY-MARTIN *et al.*, 1979), dapat pula karena sel-sel B yang *hyporesponsiveness* (REID *et al.*, 1979), atau karena gangguan mekanisme interaksi antara sel-sel B dan sel-sel T di dalam merespon kehadiran antigen *T. evansi* (TERRY *et al.*, 1973). Intensitas imunosupresi ditentukan oleh jenis antigen dan waktu terjadinya

imunosupresi (MACKENZIE, 1973). Pada sapi yang diinfeksi dengan *T. congolense* terdapat peningkatan konsentrasi IgG2 dan penurunan konsentrasi IgG1, dan penurunan IgG1 ini diduga berkaitan erat dengan terjadinya imunosupresi (TABEL *et al.*, 1981). Beberapa faktor atau kondisi telah diketahui dapat bertindak sebagai imunosupresor seperti penyakit kanker (JESSUP dan COHEN, 1977; JESSUP *et al.*, 1981), stres karena panas atau dingin (REGNIER dan KELLY, 1981), infeksi *T. equiperdum* (OYEJIDE *et al.*, 1985), atau infeksi dengan *T. brucei* (ASKONAS, 1984). Usaha untuk mengembangkan suatu teknik uji untuk mendeteksi imunosupresi pada manusia adalah didasarkan pada kenyataan bahwa keadaan imunosupresi biasanya ditandai dengan respon kekebalan humoral ataupun seluler yang rendah, sehingga apabila ditemukan suatu teknik yang dapat mendeteksi respon humoral saja atau respon seluler saja maka teknik tersebut akan dapat digunakan untuk mendiagnosis keadaan imunosupresi (ASKONAS, 1984). Beberapa teknik uji imunosupresi telah berhasil dikembangkan, terutama pada manusia, antara lain *dinitrochlorobenzen skin contact sensitisation test* (uji DNCB), *phytohaemagglutination skin test* (uji PHA) dan *homologous passive cutaneous anaphylaxis test* (uji HPCA). DNCB adalah bahan kimia yang reaktif terhadap kulit dan bersifat sensitisasi sistemik (REDDY *et al.*, 1981). Di dalam kontak sensitisasi, DNCB menghasilkan reaksi *delayed type hypersensitivity* (RAJAN *et al.*, 1982). Dasar dari uji PHA adalah kemampuan dari PHA untuk menstimulir sel-sel T dan sebagian kecil sel-sel B untuk membelah, dan reaksi ini terdepres apabila hewan yang bersangkutan menderita penyakit tertentu, misalnya influenza, penyakit diare pada sapi, distemper pada anjing, penyakit Marek dan tetelo pada ayam (TIZARD, 1987). Uji PHA adalah teknik yang akurat untuk mendeteksi keadaan imunosupresi pada orang (BLAESE *et al.*, 1973). Sedangkan uji HPCA adalah indikator yang sangat sensitif untuk antibodi reagenik (ROITT, 1980). Baik antibodi IgE-reagenik maupun IgG-reagenik mampu menghasilkan reaksi *delayed type hypersensitivity* apabila diikuti oleh kehadiran sel-T (termasuk sel mast) (OLSEN dan KRAKOWKA, 1979).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kelayakan teknis uji DNCB, PHA dan HPCA untuk mendeteksi imunosupresi yang disebabkan oleh malnutrisi dan infeksi *T. evansi* pada kerbau berdasarkan hipotesis bahwa : (1). Kerbau normal yang disensitasi dengan DNCB kemudian ditantang dengan bahan yang sama

memberikan respon berupa peradangan kulit yang lebih luas dibanding peradangan kulit yang terjadi pada kerbau yang menderita immunosupresi karena infeksi *T. evansi* atau malnutrisi. (2). Kerbau normal yang diinjeksi dengan PHA menunjukkan pertambahan tebal kulit yang lebih besar dibanding penebalan kulit pada kerbau yang diinfeksi dengan *T. evansi* atau kerbau malnutri. (3). Kerbau normal yang diinjeksi dengan vaksin ovalbumin akan terbentuk antibodi reagenik di dalam darahnya, apabila serum dari kerbau tersebut kemudian diinjeksikan ke dalam kulit kerbau normal yang berkulit albino dan kemudian kerbau normal tersebut diinjeksi dengan ovalbumin yang telah dilabel dengan methylen biru, maka pada kulit dimana serum tersebut diinjeksikan akan terjadi reaksi *delayed type hypersensitivity* (peradangan berwarna biru). Akan tetapi apabila kerbau yang diinjeksi dengan vaksin ovalbumin tersebut dalam keadaan immunosupresi sebagai akibat infeksi *T. evansi* atau malnutrisi, maka reaksi radang pada kerbau percobaan menjadi lemah atau negatif.

## MATERI DAN METODE

### Kerbau percobaan dan isolat *Trypanosoma evansi*

Enambelas ekor kerbau, umur 12-18 bulan, kelamin jantan dan betina, dibagi menjadi 4 grup masing-masing 4 ekor. Grup<sub>1</sub> diberi ransum berkualitas tinggi dan diinfeksi dengan *T. evansi*, Grup<sub>2</sub> diberi ransum berkualitas tinggi dan tidak diinfeksi, Grup<sub>3</sub> diberi ransum berkualitas rendah dan diinfeksi, dan Grup<sub>4</sub> diberi ransum berkualitas rendah dan tidak diinfeksi. Pemberian ransum dilakukan mulai 13 minggu sebelum hewan diinfeksi. Satu minggu sebelum pemberian ransum dimulai, semua hewan divaksinasi terhadap penyakit ngorok, diadakan tuberkulinasi yang hasilnya adalah negatif terhadap tuberkulosis, diobati dengan fasinex untuk membebaskan hewan dari infeksi cacing hati, dan diobati dengan ivomec untuk cacing nematoda dan penyakit ektoparasit. Semua hewan ditempatkan di dalam kandang Balitvet, Bogor yang bebas lalat dan setiap grup dipisahkan dari grup lainnya.

Pakan suplemen yang diberikan adalah pakan suplemen komersial dengan kandungan air 14%, protein kasar 13%, lemak kasar 3,5%, serat kasar maksimum 8%, dan kadar abu maksimum 6,5%. Hewan dengan ransum berkualitas tinggi diberi pakan suplemen 3 kg/ekor/hari, rumput gajah (*Penicetum purpureum*) 15 kg/ekor/hari, sedangkan hewan dengan ransum berkualitas rendah hanya diberi jerami padi secara *ad libitum*.

*T. evansi* Bakit 102 dari Bank Trypanosoma Balitvet digunakan untuk infeksi di dalam penelitian ini.

### Uji DNCB

Untuk mendapatkan reaksi DNCB yang baik hewan harus disensitisasi terlebih dahulu dengan DNCB, kemudian ditantang dengan DNCB, sehingga hewan yang normal akan memberikan respon tantangan berupa peradangan kulit yang luasnya dapat diukur.

### Sensitisasi

Tiga hari sebelum diinfeksi dengan *T. evansi* kerbau disensitisasi dengan DNCB sebagai berikut : Pada permukaan kulit seluas 75x75 mm<sup>2</sup> di daerah leher sebelah kanan dicukur bersih, kemudian dicuci dengan alkohol. Permukaan kulit tersebut seluas 50x50 mm<sup>2</sup> diberi tanda dengan spidol; DNCB dilarutkan dalam DMSO/etanol (1 bagian DMSO dan 9 bagian etanol) sehingga terbentuk larutan 4 mg DNCB per 0,1 ml DMSO/etanol, kemudian 0,1 ml larutan ini disemprotkan dengan pipet pastur *disposable* di atas kulit yang ditandai dengan spidol, kemudian diratakan hingga 50x50 mm<sup>2</sup>.

### Ujiantang

Ujiantang dilakukan 7 hari sesudah kerbau diinfeksi dengan *T. evansi* atau 10 hari sesudah kerbau disensitisasi, untuk ujiantang ini dipilih daerah kulit seluas 50x50 mm<sup>2</sup>, satu daerah pada leher dan satu daerah pada telinga, masing-masing pada sisi badan sebelah kanan dan pada sisi sebelah kiri, kemudian daerah tersebut dicukur bersih dan dicuci dengan alkohol. Daerah kulit yang telah digunakan untuk sensitisasi sebaiknya jangan digunakan untuk ujiantang. Dari daerah tersebut diambil 20x20 mm<sup>2</sup> kemudian diberi tanda dengan cat putih atau spidol, sebanyak 0,4 mg DNCB yang telah dilarutkan dalam 250 ul minyak zaitun kemudian disemprotkan merata dengan pipet pastur *disposable* di daerah yang sudah diberi tanda di bagian kiri, sedangkan daerah sebelah kanan disemprot dengan minyak zaitun saja. Reaksi radang pada kulit diukur pada 24, 48 dan 72 jam sesudah ditantang dan luas reaksi radang ditetapkan sebagai hasil kali antara diameter panjang dengan diameter lebar.

### Uji PHA

Dua daerah pada leher masing-masing disebelah kanan dan di sebelah kiri dicukur dan dibersihkan dengan alkohol, kemudian diberi tanda lingkaran dengan spidol dengan diameter 5 cm. PHA stok dilarutkan dengan air suling steril sehingga membentuk larutan 250 ug PHA per 0,1 ml larutan. Sebanyak 0,1 ml larutan PHA disuntikkan ke dalam kulit di tengah-tengah lingkaran yang sudah diberi tanda, sedangkan

sebagai kontrol disuntikkan 0,1 ml air suling steril. Dengan teknik yang sama uji PHA diulang lagi pada minggu ke-5, 13 dan 14 sesudah infeksi. Untuk suntikan pada minggu ke-1, -5 dan -13 digunakan dosis 250 ug, dan untuk minggu ke-14 digunakan dosis 500 ug. Pertambahan tebal kulit diukur dengan alat pengukur tebal kulit (*Harpender Skin Caliper*) pada 0, 24, 48, dan 72 jam setelah disuntik. Pertambahan tebal kulit dihitung dengan menggunakan rumus yang dibuat oleh penulis sendiri bersama Dr. D.B. Copemen dari James Cook University sebagai berikut :

$$I = \frac{(T_t - T_{co})}{T_o} \times 100\%$$

Di mana : I = kenaikan tebal kulit sebagai respon terhadap PHA (mm)  
 T<sub>t</sub> = tebal kulit waktu t  
 T<sub>co</sub> = tebal kulit pada kontrol  
 T<sub>o</sub> = tebal kulit sebelum disuntik

## Uji HPCA

### Sensitisasi

Sembilan bagian Drakeol (paraffin) ditambahkan pada 1 bagian Arlacel A, dicampur pada temperatur 37°C dan disterilkan dengan filter EKS yang steril. Campuran ini merupakan emulsi air dalam minyak atau emulsi tunggal. Untuk membuat emulsi ganda, 2 bagian emulsi tunggal dicampur dengan 1 bagian dari 2% Tween-80 M25 *phosphate buffer*, diaduk dan dihomogenkan dengan *blender*.

*Crude ovalbumin* (Grade II No. A-5253 Sigma) digunakan dengan larutan 5% dalam air suling.

Sebanyak 10 ml emulsi ganda ajuvan disimpan dalam tabung steril yang tertutup, kemudian 10 ml ovalbumin 5% disemprotkan ke dalam ajuvan dengan menggunakan jarum suntik no 27, ujung jarum diletakan persis di bawah permukaan ajuvan sambil disemprotkan. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *blender*.

Hewan disensitisasi dengan menyuntikkan 10 ml vaksin ajuvan ovalbumin secara intra vena 14 hari sebelum diinfeksi dengan *T. evansi*.

### Pelaksanaan uji HPCA pada kerbau albino

Untuk uji HPCA digunakan 2 ekor kerbau muda yang berkulit albino agar reaksi pada perubahan kulit hasilnya mudah dibaca. Kedua kerbau tersebut harus belum pernah mendapat sensitisasi dengan ovalbumin. Thorax sebelah kanan dan sebelah kiri masing-masing kerbau dicukur bersih dan kemudian dicuci dengan alkohol. Setiap sisi thorax masing-

masing kerbau dibuat garis-garis dengan cat putih, sehingga terbentuk 5 kolom dan 9 lajur. Kolom dan lajur akhirnya membentuk 5x9 kotak yang berukuran 6x6 cm<sup>2</sup>. Sampel serum yang diuji adalah serum dari semua grup kerbau percobaan yang diambil pada minggu ke-3 dan ke-5 sesudah diinfeksi. Setiap sampel serum yang diuji dilarutkan di dalam PBS steril, pH :7.2 menjadi larutan 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, dan 1:16. Pada lajur paling atas (5 kotak) disuntikkan PBS steril masing-masing sebanyak 200 ul ke dalam kulit sebagai kontrol. Sedangkan pada lajur-lajur di bawah berikutnya disuntikkan sampel serum dengan 5 level pengenceran (1:1, 1:2, 1:4, 1:8, dan 1:16) dengan dosis masing-masing sebesar 200 ul ke dalam kulit. Setelah 60-72 jam kedua kerbau disuntik dengan campuran 20 ml Evans blue 2,5% dan 80 ml ovalbumin 5% ke dalam pembuluh darah vena. Reaksi dibaca 1-2 menit sesudah disuntik, daerah warna biru dengan diameter > 5 mm dicatat sebagai reaksi yang positif, dan titer antibodi dihitung berbanding terbalik dengan pengenceran tertinggi serum yang positif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji DNCB disajikan pada Tabel 1. Nilai DNCB rata-rata dari Grup<sub>2</sub> yang dibaca pada akhir minggu ke-1 sesudah kerbau diinfeksi dengan *T. evansi* dan 24 jam sesudah ditantang dengan DNCB adalah sebesar  $33 \pm 4,7 \text{ mm}^2$ . Nilai tersebut merupakan nilai DNCB rata-rata tertinggi dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan nilai DNCB rata-rata dari Grup<sub>1</sub>, Grup<sub>3</sub> dan Grup<sub>4</sub> pada waktu pengamatan yang sama. Karena kerbau di Grup<sub>2</sub> mendapat ransum berkualitas tinggi dan dianggap sebagai grup hewan normal yang tidak diinfeksi dengan *T. evansi*, maka nilai DNCB rata-rata pada Grup<sub>2</sub> merupakan nilai DNCB rata-rata dari kerbau yang normal, sedangkan nilai DNCB rata-rata pada Grup<sub>1</sub>, Grup<sub>3</sub> dan Grup<sub>4</sub> masing-masing adalah merupakan nilai DNCB dari kerbau normal yang diinfeksi dengan *T. evansi* (Grup<sub>1</sub>), kerbau malnutrisi yang diinfeksi dengan *T. evansi* (Grup<sub>3</sub>) dan kerbau malnutrisi dan tidak diinfeksi (Grup<sub>4</sub>). Apabila nilai DNCB rata-rata dari Grup<sub>1</sub> ( $15 \pm 1,8 \text{ mm}^2$ ), Grup<sub>3</sub> ( $15 \pm 2,9 \text{ mm}^2$ ) dan Grup<sub>4</sub> ( $16 \pm 0,9 \text{ mm}^2$ ) tersebut dibandingkan dengan nilai DNCB dari Grup<sub>2</sub> sebagai kerbau normal ( $33 \pm 4,7 \text{ mm}^2$ ) pada waktu pengamatan yang sama, maka akan diperoleh angka persentase masing-masing sebesar 45,5%; 45,5% dan 48,5% dari nilai DNCB rata-rata pada kerbau normal atau dapat dikatakan bahwa telah terjadi penurunan respon DNCB (terjadi supresi respon DNCB) masing-masing sebesar 54,5% untuk Grup<sub>1</sub>, 54,5% untuk Grup<sub>3</sub> dan 51,5% untuk Grup<sub>4</sub>.

**Tabel 1.** Hasil uji DNCB pada kerbau malnutrisi dan kerbau yang diinfeksi dengan *Trypanosoma evansi*

Lama sesudah infeksi dengan <i>T. evansi</i> (Minggu)	Lama sesudah ditantang (Jam)	Luas reaksi rata-rata ± SE (mm <sup>2</sup> )			
		Grup <sub>1</sub>	Grup <sub>2</sub>	Grup <sub>3</sub>	Grup <sub>4</sub>
1	24	15 ± 1,8 b	33 ± 4,7 a	15 ± 2,9 b	16 ± 0,9 b
	48	11 ± 1,0 b	23 ± 2,1 a	7 ± 1,9 b	13 ± 1,6 b
5	24	17 ± 1,9 a	16 ± 3,2 a	18 ± 3,0 a	18 ± 3,8 a
	48	15 ± 1,0 a	13 ± 2,8 a	15 ± 2,7 a	16 ± 2,9 a

**Keterangan :** Grup<sub>1</sub> Mendapat ransum berkualitas tinggi, diinfeksi dengan *T. evansi*  
 Grup<sub>2</sub> Mendapat ransum berkualitas tinggi, tidak diinfeksi  
 Grup<sub>3</sub> Mendapat ransum berkualitas rendah, diinfeksi dengan *T. evansi*  
 Grup<sub>4</sub> Mendapat ransum berkualitas rendah, tidak diinfeksi  
 a,b Di dalam baris yang sama huruf berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata (P<0,05)

Nilai DNCB rata-rata Grup<sub>2</sub> yang dibaca pada akhir minggu ke-1 sesudah kerbau diinfeksi dengan *T. evansi* dan 48 jam sesudah ditantang dengan DNCB adalah sebesar 23 ± 2,1 mm<sup>2</sup>. Nilai tersebut merupakan nilai tertinggi dan berbeda nyata (P<0,05) dibanding dengan nilai DNCB pada Grup<sub>1</sub>, Grup<sub>3</sub> dan Grup<sub>4</sub>. Apabila nilai DNCB rata-rata Grup<sub>1</sub> (11 ± 1,0 mm<sup>2</sup>), Grup<sub>3</sub> (7 ± 1,9 mm<sup>2</sup>) dan Grup<sub>4</sub> (13 ± 1,6 mm<sup>2</sup>) dibandingkan dengan nilai DNCB kerbau normal (Grup<sub>2</sub> = 23 ± 2,1 mm<sup>2</sup>) pada waktu pengamatan yang sama, maka akan diperoleh angka persentase masing-masing sebesar 47,8% untuk Grup<sub>1</sub>, 30,4% untuk Grup<sub>3</sub> dan 56,5% untuk Grup<sub>4</sub> yang masing-masing lebih rendah dari nilai DNCB kerbau normal (Grup<sub>2</sub>) atau dapat dikatakan telah terjadi penurunan respon DNCB (terjadi supresi respon DNCB) masing-masing sebesar 52,2% untuk Grup<sub>1</sub>, 69,6% untuk Grup<sub>3</sub> dan 43,5% untuk Grup<sub>4</sub>.

Hasil uji DNCB ini membuktikan bahwa respon DNCB pada kerbau normal (Grup<sub>2</sub>) pada pengamatan pada akhir minggu ke-1 sesudah diinfeksi dengan *T. evansi* dan 24-48 jam sesudah ditantang dengan DNCB adalah 2 x lebih tinggi dan berbeda nyata (P<0,05) dari kerbau normal yang diinfeksi dengan *T. evansi*, kerbau malnutrisi yang diinfeksi dan yang tidak diinfeksi dengan *T. evansi* (Grup<sub>3</sub> dan Grup<sub>4</sub>). Penurunan respon DNCB pada kerbau yang diinfeksi, kerbau malnutrisi yang diinfeksi dan yang tidak diinfeksi disebabkan oleh adanya supresi reaksi imunoseruler yang diakibatkan oleh keadaan malnutri dan infeksi *T. evansi*, keduanya telah bertindak sebagai supresor. Kejadian supresi yang sama telah dilaporkan pada mencit yang diinfeksi dengan *T. brucei* (REID *et al.*, 1979), atau pada tikus besar yang diinfeksi dengan *T. brucei* dan pada sapi yang diinfeksi dengan *T. congolense* (HOLMES *et al.*, 1974) atau pada infeksi beberapa penyakit dan infeksi

penyakit kanker (REDDY *et al.*, 1981). Kejadian imunosupresi yang berkaitan dengan malnutrisi ini didukung oleh laporan yang menyatakan bahwa status gizi pada orang dan kebanyakan spesies hewan berpengaruh terhadap derajat kekebalan dari infeksi parasit dan penyakit lain (BAISEL, 1982; GERSHWIN *et al.*, 1985; BUNDY dan GOLDEN, 1987; WAN *et al.*, 1989), terutama level protein merupakan faktor yang sangat penting (BOWN dan SYKES, 1984; MICHAEL dan BUNDY, 1992). Keadaan malnutrisi dan penyakit memang telah dibuktikan dapat berakibat terjadinya kegagalan respon seluler (ROITT, 1980), yang selanjutnya kegagalan respon seluler akan berakibat terjadinya imunosupresi. Hasil uji DNCB ini memberi harapan bahwa teknik ini dapat digunakan untuk mendeteksi keadaan imunosupresi yang disebabkan oleh infeksi *T. evansi* ataupun oleh keadaan malnutrisi. Melihat besarnya nilai DNCB pada Grup<sub>1</sub>, Grup<sub>3</sub> dan Grup<sub>4</sub> yang tidak berbeda nyata (P>0,05) pada semua pengamatan menunjukkan bahwa tidak ada efek imunosupresi yang sinergisme atau efek imunosupresi akumulatif pada kombinasi antara infeksi *T. evansi* dan keadaan malnutrisi. Pada pembacaan pada akhir minggu ke-1 sesudah diinfeksi dengan *T. evansi* dan 48 jam sesudah ditantang dengan DNCB terdapat kecenderungan bahwa respon imunosupresi yang terjadi karena kombinasi infeksi *T. evansi* dan malnutrisi mencapai 69,6% (Grup<sub>3</sub>) adalah yang terbesar, diikuti respon imunosupresi pada kerbau yang diinfeksi *T. evansi* saja (Grup<sub>1</sub>) sebesar 52,2%, dan akhirnya respon imunosupresi karena malnutrisi saja (Grup<sub>4</sub>) sebesar 43,5% yang merupakan nilai terkecil. Walaupun ada dugaan bahwa perbedaan besarnya supresi tersebut disebabkan karena Grup<sub>3</sub> mengalami dua supresor ialah infeksi *T. evansi* dan malnutrisi, Grup<sub>1</sub> satu supresor

(infeksi *T. evansi*) dan Grup<sub>4</sub> satu supresor (malnutrisi), akan tetapi untuk lebih pasti akan dugaan tersebut harus diuji lebih lanjut misalnya dengan menggunakan kerbau percobaan yang jumlahnya lebih banyak.

Nilai DNCB rata-rata pada kerbau yang dibaca pada akhir minggu ke-1 sesudah diinfeksi dengan *T. evansi* dan dibaca dalam waktu lebih dari 48 jam sesudah ditantang dengan DNCB, dan semua nilai DNCB rata-rata yang dibaca pada akhir minggu ke-5 pada semua jam pembacaan sesudah ditantang dengan DNCB tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P > 0,05$ ). Hal ini memberi kesan bahwa reaksi DNCB hanya berjalan sampai dengan 48 jam sesudah ditantang, dan setelah itu terjadi adaptasi imunoseruler yang berakibat reaksi selanjutnya tidak sekuat pada rekasi sebelumnya.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kerbau normal memberikan reaksi DNCB yang lebih besar dibandingkan reaksi DNCB pada kerbau yang mendapat infeksi *T. evansi*, malnutrisi, maupun kombinasi antara infeksi *T. evansi* dan malnutrisi. Reaksi DNCB tertinggi dicapai antara 24-48 jam sesudah ditantang. Berdasarkan kesimpulan ini diharapkan bahwa teknik DNCB dapat digunakan untuk mendeteksi imunosupresi pada kerbau di laboratorium untuk keperluan penelitian dan di lapangan misalnya untuk membuktikan kegagalan vaksinasi terhadap penyakit

tertentu sebagai akibat adanya infeksi *T. evansi* atau malnutrisi.

#### *Phytohaemagglutinin skin test (Uji PHA)*

Hasil uji PHA disajikan dalam Tabel 2. Nilai PHA rata-rata dari Grup<sub>2</sub> yang dibaca pada akhir minggu ke-1 sesudah kerbau diinfeksi dengan *T. evansi* dan 24 jam sesudah diinjeksi dengan larutan PHA adalah sebesar  $45 \pm 1,0$  mm. Nilai PHA tersebut merupakan nilai tertinggi dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan nilai PHA dari Grup<sub>1</sub>, sedangkan nilai PHA dari Grup<sub>4</sub> sebesar  $20,4 \pm 2,9$  mm merupakan nilai PHA yang terletak di antara nilai PHA dari Grup<sub>2</sub> (nilai tertinggi) dan Grup<sub>3</sub> atau Grup<sub>4</sub> (nilai terendah) pada waktu pengamatan yang sama. Apabila nilai PHA dari Grup<sub>1</sub> ( $14,8 \pm 2,8$  mm), Grup<sub>3</sub> ( $9,6 \pm 4,6$  mm) dan Grup<sub>4</sub> ( $20,4 \pm 2,9$  mm) tersebut dibandingkan dengan nilai PHA kerbau normal (Grup<sub>2</sub> =  $45,0 \pm 1,0$  mm), maka diperoleh angka persentase sebesar 32,9% untuk Grup<sub>1</sub>, 21,3% untuk Grup<sub>3</sub> dan 45,3% untuk Grup<sub>4</sub> yang lebih rendah dari nilai PHA kerbau normal (Grup<sub>2</sub>), atau dapat dikatakan telah terjadi supresi nilai PHA masing-masing sebesar 67,1% untuk Grup<sub>1</sub>, 78,7% untuk Grup<sub>3</sub> dan 54,7% untuk Grup<sub>4</sub>.

**Tabel 2.** Hasil uji PHA pada kerbau malnutrisi dan kerbau yang diinfeksi dengan *T. evansi*

Lama sesudah diinfeksi <i>T. evansi</i> (Minggu)	Total dosis PHA (ug)	Lama sesudah diinjeksi PHA (jam)	Pertambahan tebal kulit rata-rata + SE (mm)			
			Grup1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	250	24	$14,8 \pm 2,8$ b	$45,0 \pm 1,0$ a	$9,6 \pm 4,6$ b	$20,4 \pm 2,9$ c
		48	$6,7 \pm 3,5$ b	$32,4 \pm 6,7$ a	$5,9 \pm 4,1$ b	$17,2 \pm 5,3$ b
		72	$3,5 \pm 2,2$ a	$17,8 \pm 5,2$ a	0,0 a	$12,6 \pm 5,5$ a
5	250	24	$1,5 \pm 1,5$ a	$0,2 \pm 2,2$ a	$2,7 \pm 1,5$ a	$2,3 \pm 1,3$ a
		48	$1,3 \pm 0,80$ a	0,0 a	$1,1 \pm 0,6$ a	$0,9 \pm 0,9$ a
13	250	24	$0,2 \pm 0,2$ a	$6,5 \pm 6,4$ a	$3,1 \pm 1,2$ a	$2,7 \pm 1,6$ a
		48	$1,6 \pm 1,0$ a	$9,3 \pm 5,2$ a	0,0 a	$1,7 \pm 0,9$ a
14	500	24	0,0 b	$10,5 \pm 5,5$ a	0,0 b	$8,1 \pm 4,6$ a
		48	$1,0 \pm 0,5$ a	$5,2 \pm 3,1$ a	$4,8 \pm 4,7$ a	$3,6 \pm 3,6$ a

**Keterangan :** Grup<sub>1</sub> Mendapat ransum berkualitas tinggi, diinfeksi dengan *T. evansi*  
 Grup<sub>2</sub> Mendapat ransum berkualitas tinggi, tidak diinfeksi  
 Grup<sub>3</sub> Mendapat ransum berkualitas rendah, diinfeksi dengan *T. evansi*  
 Grup<sub>4</sub> Mendapat ransum berkualitas rendah, tidak diinfeksi  
 a,b,c Di dalam baris yang sama huruf berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

Nilai PHA rata-rata dari Grup<sub>2</sub> yang dibaca pada akhir minggu ke-1 sesudah kerbau diinfeksi dengan *T. evansi* dan 48 jam sesudah diinjeksi dengan larutan PHA adalah sebesar  $32,4 \pm 6,7$  mm. Nilai PHA tersebut merupakan nilai tertinggi dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan nilai rata-rata PHA pada Grup<sub>1</sub>, Grup<sub>3</sub> dan Grup<sub>4</sub> pada waktu pengamatan yang sama. Apabila nilai PHA rata-rata dari Grup<sub>1</sub> ( $6,7 \pm 3,5$  mm), Grup<sub>3</sub> ( $5,9 \pm 4,1$  mm) dan Grup<sub>4</sub> ( $17,2 \pm 5,3$  mm) dibandingkan dengan nilai rata-rata hewan normal (Grup<sub>2</sub> =  $32,4 \pm 6,7$  mm) maka akan diperoleh angka persentase masing-masing sebesar 20,7% untuk Grup<sub>1</sub>, 18,2% untuk Grup<sub>3</sub> dan 53,1% untuk Grup<sub>4</sub>, atau dapat dikatakan telah terjadi supresi nilai PHA untuk Grup<sub>1</sub> sebesar 79,3%, Grup<sub>3</sub> sebesar 81,8% dan Grup<sub>4</sub> sebesar 46,9%.

Respon PHA pada kerbau normal (Grup<sub>2</sub>) pada pengamatan akhir minggu ke-1 sesudah diinfeksi dengan *T. evansi* dan 24-48 jam sesudah diinjeksi dengan larutan PHA menunjukkan nilai yang tertinggi dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan nilai PHA dari Grup<sub>1</sub>, Grup<sub>3</sub> dan Grup<sub>4</sub>. Penurunan respon PHA pada kerbau normal yang diinfeksi dengan *T. evansi* (Grup<sub>1</sub>), kerbau malnutrisi yang diinfeksi dengan *T. evansi* dan kerbau malnutrisi yang tidak diinfeksi disebabkan oleh adanya supresi reaksi PHA pada sel-sel

mononuklear perifer yang disebabkan oleh adanya malnutrisi dan infeksi *T. evansi* yang bertindak sebagai supresor (ROITT, 1980). Hasil uji PHA ini sedikit berbeda dengan hasil uji DNCB, dimana pada hasil uji DNCB pada pembacaan pertama hanya Grup<sub>2</sub> yang berbeda nyata dengan grup-grup lainnya, sedangkan pada uji PHA pada pembacaan pertama terdapat perbedaan yang nyata nilai rata-rata dari Grup<sub>2</sub> yang merupakan nilai tertinggi, diikuti Grup<sub>4</sub> yang juga berbeda nyata dari grup lainnya. Hasil yang serupa juga didapat pada pengamatan pada akhir minggu ke-1 sesudah kerbau diinfeksi dengan *T. evansi*, dengan dosis PHA 250 ug, dan pengamatan 48 jam sesudah diinjeksi dengan PHA. Pada pengamatan ke dua ini walaupun ada kecenderungan bahwa nilai Grup<sub>4</sub> lebih besar dari nilai dari Grup<sub>1</sub> atau Grup<sub>3</sub>, akan tetapi beda antar grup-grup tersebut secara statistik tidak berbeda nyata. Dapat dikatakan bahwa hasil uji PHA ini memperlihatkan adanya perbedaan penebalan kulit yang ditimbulkan oleh dua supresor yaitu kombinasi malnutrisi dan infeksi *T. evansi* dengan nilai terbesar (Grup<sub>3</sub>), yang lebih kecil yang disebabkan oleh infeksi *T. evansi* saja (Grup<sub>1</sub>) dan yang terkecil yang ditimbulkan oleh malnutrisi saja (Grup<sub>4</sub>) (Tabel3)

**Tabel 3.** Hasil uji HPCA pada kerbau malnutrisi dan kerbau yang diinfeksi dengan *T. evansi*

	Serum minggu ketiga sesudah infeksi					Serum minggu kelima sesudah infeksi				
	Pengenceran serum					Pengenceran serum				
	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16
Ransum berkualitas tinggi, diinfeksi dengan <i>T. evansi</i>										
376*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
377	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
379	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
383	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ransum berkualitas tinggi, tidak diinfeksi										
378	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
381	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
384	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
386	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ransum berkualitas rendah, diinfeksi dengan <i>T. evansi</i>										
370	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
374	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
380	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-
387	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ransum berkualitas rendah, tidak diinfeksi dengan <i>T. evansi</i>										
372	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
373	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
375	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-
388	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-

**Keterangan :** \* = Nomor hewan, + = HPCA positif, - = HPCA negatif  
 Grup<sub>1</sub> Mendapat ransum berkualitas tinggi, diinfeksi dengan *T. evansi*  
 Grup<sub>2</sub> Mendapat ransum berkualitas tinggi, tidak diinfeksi  
 Grup<sub>3</sub> Mendapat ransum berkualitas rendah, diinfeksi dengan *T. evansi*  
 Grup<sub>4</sub> Mendapat ransum berkualitas rendah, tidak diinfeksi

Nilai PHA rata-rata pada kerbau yang dibaca pada akhir minggu ke-1 sesudah kerbau diinfeksi dengan *T. evansi* dan 24 jam sesudah diinfeksi dengan larutan PHA dengan dosis 250 ug, merupakan nilai tertinggi, kemudian nilai PHA menurun pada pengamatan 48 jam sesudah diinfeksi, dan menjadi negatif (rata-rata rendah dan tidak berbeda nyata diantara nilai-nilai antar grup) pada pengamatan 72 jam berikutnya. Sedangkan nilai PHA rata-rata yang dibaca pada akhir minggu ke-5, ke-13, dan ke-14, baik yang menggunakan dosis 250 ug maupun 500 ug pada 24-48 jam sesudah diinfeksi dengan PHA semuanya negatif (rata-rata rendah dan tidak berbeda nyata diantara nilai-nilai antar grup).

#### **Homologous passive cutaneous anaphylaxis test (Uji HPCA)**

Hasil uji HPCA disajikan pada Tabel 3. Karena terbatasnya fasilitas yang ada maka tidak semua serum dapat diuji disini. Dengan menggunakan serum kerbau yang dikoleksi pada minggu ke-3 dan ke-5 sesudah kerbau diinfeksi dengan *T. evansi* diperoleh hasil pada Grup<sub>1</sub> tidak ada serum yang positif. Pada Grup<sub>2</sub> terdapat dua serum yang positif ialah pada serum yang dikoleksi pada minggu ke-3 sesudah kerbau diinfeksi dengan *T. evansi* pada pengenceran rendah (1:1) dan satu serum yang dikoleksi pada akhir minggu ke-5 sesudah infeksi juga pada pengenceran rendah (1:1). Pada Grup<sub>3</sub> terdapat satu serum yang dikoleksi pada minggu ke-3 positif pada empat level pengenceran (1:1, 1:2, 1:4, dan 1:8) dan satu serum yang dikoleksi pada akhir minggu ke-5 yang berasal dari kerbau yang sama positif pada 3 level pengenceran (1:2, 1:4 dan 1:8). Pada Grup<sub>4</sub> serum yang dikoleksi pada minggu ke-3 sesudah diinfeksi satu serum positif pada pengenceran (1:4), dan satu serum lagi positif pada dua level pengenceran (1:2 dan 1:8), dan pada serum yang dikoleksi pada minggu ke-5 sesudah infeksi terdapat satu serum positif pada empat level pengenceran (1:1, 1:2, 1:4, dan 1:8) dan satu serum lagi positif pada pengenceran (1:1). Semua hasil uji pada kulit yang hanya disuntik dengan PBS saja sebagai kontrol adalah negatif.

Secara umum dapat disimpulkan bahwa reaksi HPCA terjadi pada pengenceran yang rendah dan tidak konsisten baik menurut grup kerbau maupun tingkat pengenceran.

Salah satu faktor yang perlu diperhatikan dalam hal terjadinya kegagalan reaksi HPCA ini ialah warna kulit kerbau yang digunakan untuk percobaan yang terlalu gelap, karena sulitnya untuk mendapatkan kerbau yang albino, hal ini dapat mengakibatkan salah pembacaan, di samping itu latar belakang penyakit yang pernah diderita/dialami oleh kerbau percobaan sumber serum yang berasal dari daerah yang berbeda-beda menjadi alasan terjadinya reaksi HPCA yang tidak konsisten.

## **KESIMPULAN**

Hasil uji DNCB dan PHA menunjukkan adanya perbedaan reaksi peradangan pada kulit yang jauh lebih luas secara nyata pada uji DNCB atau lebih tebal secara nyata pada uji PHA pada kerbau normal dibandingkan reaksi peradangan kulit pada kerbau yang diinfeksi dengan *T. evansi* atau kerbau malnutrisi. Dari hasil ini dapat disimpulkan lebih lanjut bahwa uji DNCB dan uji PHA dapat mendeteksi imunosupresi yang disebabkan oleh malnutrisi dan infeksi *T. evansi* pada kerbau. Reaksi tertinggi diperoleh pada 24 jam sesudah ditantang untuk uji DNCB dan 24 jam sesudah disuntik untuk uji PHA. Reaksi DNCB dan PHA masih dapat dideteksi sampai dengan 48 jam dan menjadi negatif pada 72 jam sesudah ditantang/disuntik. Uji PHA lebih sensitif, lebih teliti dan lebih sederhana pelaksanaannya dibanding dengan uji DNCB. Uji HPCA memberi hasil yang tidak konsisten seperti yang diharapkan dengan demikian uji ini tidak dapat digunakan untuk mendeteksi imunosupresi.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terima kasih terutama disampaikan kepada Dr. Bruce Copeman dari James Cook University, Australia yang telah memberi saran sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik. Ucapan terima kasih disampaikan juga kepada Kepala Balai Penelitian Veteriner, Bogor dan Proyek ATA219 Balai Penelitian Veteriner, Bogor yang telah membantu dana dan fasilitas dalam penelitian ini.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- ASKONAS, B.A. 1984. Interference in general immune function by parasite infections. African trypanosomiasis as a model system. *Parasitology* 88(4): 633-638.
- BAISEL, W.R. 1982. Single nutrients and immunity. *Am. J. Clin. Nutr.* 35: 417-468.
- BLAISE, R.M., P. WELDEN, J.J. OPPENHEIM, and T.A. WALDMAN. 1973. Phytohaemagglutinin as a skin test for the evaluation of cellular immune competence in man. *J. Lab. Clin. Med.* 81(4): 538-548.
- BOWN, M.D. and A.R. SYKES. 1984. The effect of mixed infection on the site of plasma protein absorption in the small intestine. *Can. J. Anim. Sci.* 64: 197-198.
- BUNDY, D.A.P. and M.H.N. GOLDEN. 1987. The impact of host nutrition on gastrointestinal helminth population. *Parasitology* 95: 623-635.
- GERSHWIN, M.E., R.S. BEACH, and L.S. HURLEY. 1985. *Nutrition and Immunity*. Academic Press London.
- HOLMES, P.H., E. MAMMO, A. THOMSON, P.A. KNIGHT, R. LUCKIN, P.R. MURRAY, M. MURRAY, F.W. JENNINGS,

- and G.M. URQUHART. 1974. Immunosuppression in bovine trypanosomiasis. *Vet. Rec.* 95: 86-87.
- IKEME, M.M., A. AZIZ SAHAREE, M. ZAMRI SAAD, and K. RAGAVAN. 1984. Effect of experimental *T.evansi* infections in cattle and subsequent response to haemorrhagic septicaemia vaccine. *Trop. Vet.* 2: 61-67.
- JESSUP, J.M. and M.H. COHEN. 1977. Effects of murine tumours upon delayed hypersensitivity to dichlorobenzene. II. Transitory delayed hypersensitivity in tumours bearing mice. *J. Nat. Cancer* 59(4): 1221-1226.
- JESSUP, J.M., C.M. MACEK, B.D. KAHAN, and N.R. PELLIS. 1981. Effects of murine tumours upon delayed hypersensitivity to dinitrochlorobenzene. III. *in vitro* activity of the non-specific suppressor cells. *J. immunol.* 127(5): 2183-2187.
- LUCKINS, A.G. 1996. Problems associated with infections caused by *T. evansi* in Asia. Proc. of a seminar on diagnostic techniques for *T. evansi* in Indonesia. 10 January 1996, Balitvet, Bogor. 10-17.
- MACKENZIE, A.R. 1973. The non-specific immune response in young rabbits infected with *T. brucei*. *Tras. Roy. Soc. Tropmed. Hyg.* 67(2): 269.
- MACKENZIE, A.R., P.R. SIBLEY, and B.P. WHITE. 1979. Further evidence for immunosuppression in trypanosomiasis. Laboratory meeting. *Trans. Roy. Soc. Tropmed. Hyg.* 73(1): 98.
- MITRY-MARTIN, L.S., K.M. HUDSON, and R.Y. TERRY. 1979. Autoantibodies to splenocytes in murine trypanosomiasis. *Trans. Roy. Soc. Tropmed. Hyg.* 73(1): 98-99.
- MICHAEL, E. and D.A.P. BUNDY. 1992. Protein content of CBA/Ca mouse diet: relationship with host antibody responses and the population dynamics of *Trichuris muris* (Nematode) in repeated infection. *Parasitology* 105: 139-152.
- OLSEN and KRAKOWKA. 1979. Immunology and immunopathology of domestic animals. CHARLES C. THOMAS. Springfield. Illinois. USA
- OYEJIDE, A., J.E. MOULTON, and J.A. WOLCOTT. 1985. Immunosuppression in experimental trypanosomiasis: Effects of *T. equiperdum* on the pathogenesis of influenza virus infection in deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Vet. Immunol.Immunopath.* 10: 2253-2263.
- PARTOUTOMO, S. 1995. Studies on The Epidemiology of *T. evansi* in Java. PhD thesis. Dept. Biomedical and Tropical Vet. Science, James Cook University NQ, Australia.
- RAJAN, A., M.V. REDDY, T. SREEKUMARAN, K.V. VASALA, and N. VIJAYAN. 1982. Evaluation of the cell mediated immune response in pigs using 2,4 dinitrochlorobenzene. *Vet Rec.* 110: 173-174.
- REDDY, M.V., A. RAJAN, and S. SULOCHANA. 1981. Evaluation of the cell mediated immune response in cattle induced by 2,4 dinitrochlorobenzene. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2: 483-489.
- REGNIER, J.A. and K.W. KELLY. 1981. Heat and cold stress suppression *in vitro* cellular immune responses of chicken. *Am. J. Res.* 42(2): 294-299.
- REID, H.W., P.H. HOLMES, and H.H. SKINNER. 1979. Immunosuppression in experimental trypanosomiasis: Effects of *T. brucei* on immunization against louping ill virus and choriomeningitis virus. *J. Comp. Pathol.* 89(4): 581-585.
- ROELANTS, G.E., T.W. PEARSSON, W.I. MORRISON, K.S. MAYOR-WITHEY, and L.B. LUDDIN. 1979. Immune depression in trypanosome infected mice. 4. Kinetics of suppression and alleviation by the trypanosomidal drug berenil. *Clin. Exp. Immuno* 37(3): 457-469.
- ROITT, I.M. 1980. Essential Immunology. 4th ed. Blackwell Scientific Publication.
- TABEL, H., G.J. LOSSOS, M.G. MAXIE, and C.H.E. MINDER. 1981. Experimental bovine trypanosomiasis (*T. vivax*, *T. congolense*) 3. Serum levels of immunoglobulins, heterophile antibodies, antibodies to *T. vivax*. *Trop. Med. Parasit.* 32:149-153.
- TERRY, R.J., J. FREEMAN, K.M. HUDSON, and J.A. LONGSTAFFE. 1973. Immunoglobulin production and immunosuppression in trypanosomiasis: a linking hypothesis. 18th Seminaar on trypanosomiasis 28-29 September 1972. Londdon. *Trans. Roy. Soc. Tropmed Hyg.* 67(2): 263.
- TIZARD, I. 1987. An introduction to Veterinary Immunology. 3rd ed. W.B.Saunders Company, West Washington Square Philadelphia.
- WAN, J.M.W., M.P. HAW, and G.L. BLACKBURN. 1989. Nutrition, immune function and inflammation : an overview. *Proc. Nut. Society* 48: 315-335.