

TINDAKBALAS IMUNITI MUKOSA DAN HUMORAL
KAMBING TERHADAP SEMBURAN INTRANASAL
Pastorella multocida B:2 YANG DINYAHAKTIF

SITI TAFSIL RAUDAH BINTI SH ABDUL KADIR

SARJANA SAINS
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU
MALAYSIA

2010

9/7760

1100078658

Perpustakaan Sultanah Nur Zahirah
Universiti Malaysia Terengganu (UMT)



tesis

QR 82 .P25 S5 2010



1100078658

Tindakbalas imuniti mukosa dan humoral kambing terhadap
semburan intranasal pasteurilla multocida B:2 yang dinyahaktif /
Siti Tafsil Raudah Sh Abdul Kadir.

PERPUSTAKAAN SULTANAH NUR ZAHIRAH
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU (UMT)
21030 KUALA TERENGGANU

1100078658

Lihat sebelah

**TINDAKBALAS IMUNITI MUKOSA DAN HUMORAL KAMBING TERHADAP
SEMBURAN INTRANASAL *Pasteurella multocida* B:2 YANG DINYAHAKTIF**

SITI TAFSIL RAUDAH BINTI SH ABDUL KADIR

**Tesis ini dikemukakan sebagai memenuhi syarat untuk memperolehi Sarjana Sains di
Fakulti Sains dan Teknologi Universiti Malaysia Terengganu**

Mac 2010

110007828

DEDIKASI

Dedikasi ini ditujukan buat

... Abah, Mohamad bin Taib dan Mak, Tapsilah binti Mohd Nordin terima kasih di atas segala pergorbanan dan kata-kata perangsang yang tidak terhingga untuk anakmu ini.

...kakak, Siti TafzilMeriam terima kasih di atas segala bantuan dan kata-kata nasihat untuk adikmu ini

...abang Razak, abang Kamal, Lina, Nora, Sani dan Dayah terima kasih kerana menjadi pemangkin kepada diri ini untuk mengejar kejayaan.

.. Yusmidi, terima kasih kerana memahami diri ini dan menjadi sebahagian dari hidup ini.

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

TINDAKBALAS IMUNITI MUKOSA DAN HUMORAL KAMBING TERHADAP SEMBURAN INTRANASAL *Pasteurella multocida* B:2 YANG DINYAHAKTIF

SITI TAFSIL RAUDAH BINTI SH ABDUL KADIR

Pengerusi : Profesor Dr. Mohd Effendy bin Abd Wahid, PhD
Ahli : Profesor Dr. Zamri bin Saad, PhD
Fakulti : Sains dan Teknologi

Pasteurella multocida B:2 merupakan bakteria gram negatif dari keluarga Pasteurellacea yang boleh menyebabkan radang paru-paru secara akut dan seterusnya kematian terhadap lembu dan kerbau yang dikenali sebagai Haemorrhagic septicaemia atau Hawar Berdarah. Rangsangan Tisu Limfoid Berkait Mukosa (TMBM) memainkan peranan penting untuk menghalang jangkitan di bahagian mukosa yang merupakan titik pertemuan antara patogen dan perumah terdiri daripada beberapa kumpulan tisu limfoid iaitu Tisu Limfoid Berkait Bronkus (TLBB) dan Tisu Limfoid Berkait Usus (TLBU). Dalam kajian ini, rangsangan tindakbalas TLBB dan TLBU dikaji dalam kambing berusia antara 5 hingga 7 bulan yang dibahagikan kepada tiga kumpulan iaitu kumpulan pertama sebagai kumpulan kawalan manakala kumpulan kedua didedahkan sekali sahaja dengan *P. multocida* B:2 yang dimatikan dengan menggunakan formalin diberikan secara semburan intranasal 1.0ml *P. multocida* B:2 dengan kuantiti inoculumnya sebanyak 4.5×10^8 CFU/ml dan kumpulan ketiga didedahkan secara berganda dengan kuantiti antigen yang sama. Keputusan menunjukkan bilangan limfosit di TLBU meningkat hasil daripada pendedahan *P. multocida* B:2 diberikan melalui terus ke intranasal dan sistem tubuh akan mengenalinya

sebagai bendasing dan seterusnya akan mengaktifkan TMBM. Di TMBM pelbagai komponen sel *accessory*, sel T dan juga sel B yang berada di tapak penjanaan akan mula aktif dan berhijrah ke tapak pengesan melalui limfa dan salur darah. Kemudian sel B akan mula membahagi serta membeza kepada sel plasma dan juga sel limfosit yang spesifik terhadap *P.multocida* B:2 di mana sel limfosit tersebut dikenalpasti dengan mudah melalui zon gelap di pusat germinal TLBB. Manakala, sel plasma akan merembeskan antibodi IgG dan juga IgA yang spesifik kepada *P.multocida* B:2. Keputusan mendapati luas kawasan TLBB meningkat secara signifikan berbanding kawalan sebanyak (31.24%) sebaik sahaja pendedahan pertama dilakukan ($p < 0.05$). Walaubagaimanapun, limfosit TLBB menurun secara signifikan (13.11%) berbanding kawalan apabila pendedahan berganda diberikan pada dua minggu berikutnya ($p < 0.05$). Saiz TLBB yang membentuk struktur nodular dan agregat memberikan perbezaan struktur nodular sebanyak (63.46%) berbanding struktur agregat iaitu sebanyak (36.54%) pada kumpulan dua. Manakala pada kumpulan tiga, perbezaan antara nodular dan agregat adalah sebanyak (15.88%) dengan peratus struktur nodular adalah sebanyak (57.94%). Kajian ke atas TLBU dibahagikan kepada tiga struktur utama usus kecil iaitu duodenum, jejunum dan ileum di mana bilangan limfosit duodenum didapati meningkat setelah diberikan pendedahan pertama sebanyak (11.68%) berbanding kumpulan satu. Manakala, pendedahan berganda pada kumpulan tiga memberikan kesan penurunan secara signifikan ($p < 0.05$) sebanyak (28.72%) kepada bilangan limfosit duodenum di TLBU berbanding pada kumpulan dua. Jumlah limfosit di jejunum pula menunjukkan peningkatan sebanyak (23.1%) pada kumpulan dua berbanding dengan kumpulan kawalan. Bagaimanapun, didapati bilangan limfosit jejunum didapati menurun sebanyak (6.34%) berbanding kumpulan kawalan. Di Ileum, bilangan limfosit menunjukkan peningkatan sebanyak (47.33%) berbanding kumpulan kawalan dan setelah pendedahan berganda diberikan bilangan limfosit ileum didapati menurun sebanyak (11.37%). Penurunan bilangan limfosit dalam TLBB dan TLBU adalah kesan daripada mekanisme toleransi terhadap *P. multocida* B:2

yang diberikan pada pendedahan kali kedua. Kesan toleransi dipercayai disebabkan oleh anergi klon iaitu sel B limfosit spesifik *P. multocida* B:2 yang berpotensi untuk mengaruh tindakbalas dirinya sendiri terhalang untuk bertindakbalas samaada dimusnahkan atau tidak diaktifkan. Keadaan ini mungkin dipengaruhi daripada pemberian dos terlarut yang tinggi iaitu 1ml dan memori spesifik *P. multocida* B:2 tidak dijana semula menyebabkan jangka hayat sel limfosit spesifik menjadi pendek. Kajian ke atas paras rembesan IgG dan IgA pada cecair paru-paru kambing hasil dari semburan intranasal *P. multocida* B:2 yang dinyahaktif menunjukkan tindakbalas sekunder spesifik *P. multocida* B:2 telah berlaku pada kedua-dua paras antibodi tersebut yang meningkat secara tidak signifikan ($p>0.05$) pada pendedahan pertama dan juga apabila didedahkan secara berganda pada hari ke 15. Kajian ke atas paras IgG spesifik *P. multocida* B:2 dalam serum pada pendedahan pertama menunjukkan perbezaan yang tidak signifikan ($p>0.05$) antara kumpulan pertama, kumpulan dua dan juga kumpulan ketiga. Selepas pendedahan berganda diberikan pada kumpulan kedua, peningkatan secara tidak signifikan ($p>0.05$) dapat dilihat pada hari ke 19 dan juga pada hari ke 29 manakala kumpulan ketiga mencatatkan penurunan paras IgG serum pada hari ke 19 dan peningkatan pada hari ke 24 dan juga hari ke 29 masing-masing secara tidak signifikan ($p>0.05$). Ini menunjukkan penggunaan aplikasi ini boleh meningkatkan tindakbalas imuniti tempatan dan imuniti humoral. Walaubagaimanapun, kajian lanjut perlu dijalankan untuk mendapatkan kesan signifikan terhadap tindakbalas imuniti tersebut.

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

**MUCOSA AND HUMORAL IMMUNE RESPONSES ON GOAT USING INTRANASAL
SPRAYED OF DEACTIVATED *Pasteurella multocida* B:2**

SITI TAFSIL RAUDAH BINTI SH ABDUL KADIR

Chairperson : Professor Dr. Mohd Effendy bin Abd Wahid, PhD
Member : Professor Dr. Zamri bin Saad, PhD
Faculty : Science and Technology

Pasteurella multocida B:2 is a gram negative bacteria belonging to the family of Pasteurellacea. The infection of *P. multocida* B:2 known as Haemorrhagic septicaemia or Hawar Berdarah (HB) disease could causes acute pneumonia and acute death to the infected animals especially to the cattle and water buffaloes. To protect the host system from invading pathogen, Mucosa Associated Lymphoid Tissue (MALT) plays an important role in regulating mucosal immunity composing several of mucosa tissues including Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) and Gut associated lymphoid tissue (GALT). Responses of BALT and GALT were studied in experimental clinical healthy 5 to 7 month age were divided into three groups. Goats in Group 1 were subjected as unexposed control while goats in Groups two were subjected to once intranasal exposures of formalin-killed *P. multocida* B:2 with 4.5×10^8 CFU/ml of 1.0ml inoculums and goats in Groups 3 were subjected to double exposure to the same antigen. Result shows the number of lymphocytes in GALT and BALT resulted from direct exposure of the formalin-killed *P. multocida* B:2 to intranasal part and as soon as the host will recognize it as antigen and suddenly would activated MALT. Then variety of accessory cells, T cells and B

cells started to activate in inductive site and migrate to the effectors site via local lymphatic tissue and blood stream. B cell started to divide and differentiate to plasma cell and lymph cell while plasma cell would secrete the IgG and IgA antibodies. After second exposure given, the cells would develop memory specific to *P.multocida* B:2. In BALT, cell lymphocytes could be recognize easily at dark zone in the germinal center. The size of lymphocytes in BALT increased significantly compared to Group 1 is (31.24%) after first exposure given ($p<0.05$). However, number of lymphocytes in Group 3 decreased significantly after 2 weeks interval (13.11%) compared to Group 1 ($p<0.05$). While, size of nodular and aggregate BALT given dissimilar nodular structure at (63.46%) compared to aggregate structure at (36.54%) in Group 2. In Group 3, different nodular and aggregate is (15.88%) with percentage of nodular size at (57.94%). Studied on GALT were divided into 3 parts of small intestine known as duodenum, jejunum and ileum. Result shows number of lymphocytes of duodenum increased (11.68%) after first exposure given compared to Group 1. Where as, double intranasal exposure given to the Group 3 decreased significantly ($p<0.05$) at (28.72%) to the number of lymphocytes of duodenum compared to Group 2. Then, the number of lymphocytes of jejunum shows increasing at (23.1%) in Group 2 compared to Group 1. However, number of lymphocytes of jejunum decreased at (6.34%) compared to unexposed group. At Ileum, the number of lymphocytes shows increasing at (47.33%) compared to Group 1 and after double intranasal exposure given, number of lymphocytes of ileum decreased at (11.37%). The decreasing of number of lymphocytes in BALT and GALT resulted from the tolerance mechanism to *P.multocida* B:2. The effect of tolerance was believed causes by anergy clone. This situation might be because of the amount of 1ml *P.multocida* B:2 exposed to the goats are higher and then specific memory could not reenergize causes live span of cell become shorter. The studies on IgG and IgA antibodies in the lung lavage fluid following exposure to the formalin-killed *P. multocida* B:2 shows the levels of antibodies increased insignificantly ($p>0.05$) in Group 2 and Group 3. The

increasing patterned of IgG and IgA antibodies in lung lavage fluid occurred by the secondary responses specific to the *P. multocida* B:2. However, studied of the IgG and IgA levels in the serum shows once exposure to the antigen resulted insignificantly different ($p>0.05$) between Group 1, Group 2 and Group 3. At day 19 and day 24, levels of IgG shows insignificantly ($p>0.05$) increased in Group 2 and Group 3. The finding recommend for new regime of the inoculum should be considered. The increased of the serum and lung lavage fluid levels of IgG and IgA after re-exposed of *Pasteurella multocida* B:2 suggested that IgG and IgA was functioning in preventing the establishment of pathogen. The result shows intranasal application could enhance responses to the local immunity as well as to the humoral immunity. However, further studies should be done to get significant result.