

PERUBAHAN PATOLOGIS DAN GAMBARAN LEKOSIT PADA ITIK YANG DIINFEKSI *Pasteurella multocida*

Wiwin Winarsih, Ekowati Handharyani dan Agus Setiyono

Laboratorium Patologi Unggas,
Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

ABSTRAK

Enam puluh ekor itik yang berumur lima minggu dipergunakan dalam penelitian ini. Itik dibagi secara acak menjadi dua kelompok yaitu kelompok infeksi dan kontrol. Kelompok pertama diinfeksi dengan *Pasteurella multocida* (Isolat lapangan) secara intramuskular. Itik diambil darahnya dan dinekropsi 1, 2, 4 dan 8 jam setelah infeksi untuk pemeriksaan diferensial lekosit dan perubahan makroskopik.

Itik yang diinfeksi mulai menunjukkan lesio empat jam setelah infeksi. Itik yang diinfeksi dan mati menunjukkan gejala septikemi dengan hiperemi umum. Pemeriksaan gambaran lekosit menunjukkan peningkatan jumlah heterofil dan penurunan jumlah limfosit dan monosit 2, 4 dan 8 jam setelah infeksi.

PENDAHULUAN

Penyakit kolera merupakan salah satu penyakit menular pada unggas yang dapat menyerang ayam, itik, angsa dan unggas lain baik domestik maupun unggas liar (Rhoades *et al.*, 1991). Biasanya penyakit bersifat akut ditandai dengan perdarahan sepsis, kematian mendadak, angka kematian tinggi serta penyebaran penyakit yang cukup luas. Itik merupakan unggas yang sangat rentan terhadap kolera.

Kerugian yang ditimbulkan penyakit kolera cukup besar; berupa kematian, biaya vaksinasi, biaya pengobatan dan biaya tatalaksana di peternakan (Carpenter *et al.*, 1988). Kematian yang ditimbulkan oleh kolera pada suatu peternakan itik dapat mencapai 50%.

Penyakit ini biasanya menyerang itik yang telah berumur di atas 4 minggu. Serangan penyakit pada itik yang berumur lebih muda akan menyebabkan perubahan makroskopik yang lebih parah bila dibandingkan dengan serangan pada umur yang lebih tua (Hunter *et al.*, 1980).

BAHAN DAN METODA

Bahan Hewan Percobaan

Hewan percobaan adalah itik umur satu hari (DOD) yang berjumlah 60 ekor. Seluruh itik dibagi secara acak menjadi dua kelompok; kelompok pertama diinfeksi *Pasteurella multocida* dan kelompok kedua adalah kelompok kontrol (tanpa infeksi).

Bakteri

Pasteurella multocida adalah isolat lapangan yang diperoleh dari kasus yang ditemukan di laboratorium Patologi Unggas FKH IPB. Selanjutnya dilakukan isolasi dari darah jantung, kemudian dilakukan identifikasi di Laboratorium Mikrobiologi PKH IPB.

Hasil identifikasi berupa koloni *P. multocida* dibiakkan di dalam kaldu Brain Heart Infusion (BHI) 18 jam 37°C (Hunter *et al.*, 1980; Sander *et al.*, 1989). Untuk memperoleh inokulum segera dibuat suspensi dengan mengencerkan hasil biakan menggunakan NaCl fisiologis sehingga konsentrasi 10^7 colony forming unit /CFU per 0,5 ml. Infeksi diberikan secara intramuskular dengan dosis seperti di atas untuk setiap ekor itik.

Metode

Infeksi *P. multocida*

Infeksi dilakukan terhadap kelompok pertama (30 ekor) dengan aplikasi intramuskular.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan 1, 2, 4, 8 dan 24 jam setelah infeksi (S1) dengan

pengambilan darah sayap diikuti dengan prosedur nekropsis patologi. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan patologi anatomi (makroskopik) dan gambaran lekosit dengan pembuatan preparat ulas darah (metode pewarnaan Giemsa).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perubahan patologi anatomi pada itik yang diinfeksi mulai muncul 4 jam setelah infeksi pada 3 ekor itik dari 5 ekor yang dinekropsis (Tabel 1), berupa titik-titik perdarahan pada epikardium dan hiperemi pada usus. Itik yang diinfeksi dan dinekropsis satu dan dua jam setelah infeksi tidak menunjukkan perubahan; demikian juga pada kelompok kontrol.

Delapan jam setelah infeksi semua itik menunjukkan titik-titik perdarahan pada epikardium, hiperemi dan peningkatan jumlah mukus pada usus, nekrose pada otot paha atau tempat inokulasi. Dua-puluh empat jam setelah infeksi seluruh itik yang diinfeksi mati (10 ekor); terjadi titik-titik perdarahan pada epikardium, pleura dan selaput otak. Disamping itu terjadi hiperemi dan peningkatan mukus pada usus serta hiperemi pada proventrikulus, laring dan otak. Organ limpa sedikit membengkak. Hati mengalami edema dan pembendungan. Hati mengalami pembendungan dan pada tempat inokulasi terjadi nekrose.

Tabel 1. Perubahan patologi anatomi itik yang diinfeksi *Pasteurella multocida*

Waktu infeksi	Kelompok	Jumlah a/b	Perubahan patologi anatomi/lesio
1 jam	kontrol	0/5	tidak ada perubahan
	infeksi	0/5	tidak ada perubahan
2 jam	kontrol	0/5	tidak ada perubahan
	infeksi	5/5	perdarahan pada tempat inokulasi
4 jam	kontrol	0/5	tidak ada perubahan
	infeksi	3/5	titik perdarahan pada epikardium
		5/5	nekrose pada tempat inokulasi dan hiperemi pada usus
8 jam	kontrol	0/5	tidak ada perubahan
	infeksi	5/5	titik perdarahan pada epikardium hiperemi dan peningkatan jumlah mukus pada usus dan nekrose pada tempat inokulasi
24 jam	kontrol	0/10	tidak ada perubahan
	infeksi**	10/10	titik perdarahan pada epikardium pleurea dan selaput otak, hiperemi dan peningkatan jumlah mukus pada usus, hiperemi proventrikulus, otak dan laring, limpa sedikit membengkak, edema dan pembendungan paru-paru, pembendungan pada hati dan nekrose tempat inokulasi

Keterangan :

- a/b = jumlah itik dengan lesio/jumlah itik yang dinekropsi
 * = setelah infeksi
 ** = mati 24 jam setelah infeksi

Kolera unggas yang akut merupakan penyakit pada sistem sirkulasi dan organ-organ yang berkaitan dengan sistem tersebut (Snipes *et al.*, 1987). Bakteri *P. multocida* akan memasuki pembuluh darah dan melalui sistem sirkulasi akan menyebar ke hati dan limpa serta ke seluruh tubuh kemudian dapat menimbulkan kerusakan organ inang (Tsuji *et al.*, 1989).

Pemeriksaan gambaran lekosit darah itik menunjukkan bahwa jumlah heterofil pada kelompok yang diinfeksi *P. mul-*

tocida lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol pada 2, 4 dan 6 jam setelah infeksi; sedangkan jumlah limfosit dan monosit pada kelompok infeksi lebih sedikit dibandingkan kontrol (Tabel 2 - 5). Peningkatan jumlah heterofil terjadi akibat infeksi bakterial yang bersifat akut. Infeksi *P. multocida* pada kalkun yang pernah dilakukan oleh Ficken *et al.* (1989) menyebutkan bahwa peningkatan jumlah heterofil serta penurunan jumlah limfosit dan monosit mulai terjadi 1,5 jam setelah infeksi.

Pada kelompok itik yang diinfeksi terlihat tahap fagositosis, dimana ada sel-sel heterofil yang mengandung bakteri pada bagian sitoplasma. Kondisi tersebut mulai terlihat 2 jam setelah infeksi. Jumlah heterofil yang mengandung bakteri semakin meningkat dengan bertambahnya waktu infeksi. Satu dan dua jam setelah infeksi tidak ditemukan bakteri yang bebas di dalam darah; bakteri yang bebas di dalam darah mulai ditemukan 4 jam setelah infeksi.

P. multocida akan difagositosis oleh sel-sel fagosit untuk disingkirkan dengan cepat dari darah untuk dibawa ke hati

dan limpa. *P. multocida* yang patogen tahan dan tidak mati oleh sel-sel fagosit; selanjutnya akan berkembang biak di dalam darah dan jaringan tubuh menyebabkan kerusakan organ (Tsujii *et al.*, 1989; Snipes *et al.*, 1987).

Respon itik terhadap infeksi *P. multocida* tergantung pada kemampuan sel-sel fagosit untuk mematikan dan menyingkirkan bakteri tersebut beberapa saat setelah infeksi (Hunter *et al.*, 1980) Apabila bakteri dapat mengatasi sel-sel fagosit pada tahap infeksi maka bakteri akan berkembang dan menyebar ke seluruh tubuh inang.

Tabel 2. Gambaran lekosit darah itik yang diinfeksi *P. multocida* pada 1 jam setelah infeksi

Kelompok	Nomor Itik	Heterofil		Limfosit	Monosit	Bakteri	
		(+) bak	(-) bak			dalam sel	bebas
Kontrol	81	0	13	78	9	—	—
	96	0	21	68	11	—	—
	42	0	18	78	4	—	—
	97	0	17	75	8	—	—
	91	0	14	80	6	—	—
	x*	0	16,6 ^a	75,8 ^a	7,6 ^a		
Infeksi	12	0	19	77	4	—	—
	23	0	10	81	9	—	—
	28	0	20	74	6	—	—
	19	0	19	72	9	—	—
	26	0	20	74	6	—	—
	x	0	17,6 ^a	77,6 ^a	6,8 ^a		

Keterangan :

(+) bak = mengandung bakteri
 (-) bak = tidak mengandung bakteri
 — = tidak ada
 * = rata-rata

Huruf dengan superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata antara kelompok kontrol dengan infeksi

ab = P < 0,05
 ac = P < 0,01
 aa = tidak nyata

Tabel 3. Gambaran lekosit darah itik yang diinfeksi *P. multocida* pada 2 jam setelah infeksi

Kelompok	Nomor Itik	Heterofil		Limfosit	Monosit	Bakteri	
		(+) bak	(-) bak			dalam sel	bebas
Kontrol	62	0	10	80	10	—	—
	85	0	11	84	5	—	—
	77	0	19	73	8	—	—
	98	0	12	80	8	—	—
	75	0	15	77	8	—	—
	x*	0 ^a	13,4 ^a	78,8 ^a	7,8 ^a		
Infeksi	3	20	26	50	4	+	—
	9	20	29	49	2	+	—
	29	13	28	57	2	+	—
	16	17	25	54	4	+	—
	17	21	28	48	3	+	—
	x	18,2 ^c	27,2 ^c	51,6 ^c	3,0 ^c		

Tabel 4. Gambaran lekosit darah itik yang diinfeksi *P. multocida* pada 4 jam setelah infeksi

Kelompok	Nomor Itik	Heterofil		Limfosit	Monosit	Bakteri	
		(+) bak	(-) bak			dalam sel	bebas
Kontrol	84	0	20	70	10	—	—
	88	0	17	77	6	—	—
	41	0	22	68	10	—	—
	99	0	14	81	5	—	—
	74	0	14	80	6	—	—
	x*	0 ^a	17,4 ^a	75,2 ^a	7,4 ^a		
Infeksi	18	47	6	43	3	—	—
	10	33	17	46	4	—	—
	5	46	13	36	5	—	—
	21	29	12	56	3	—	—
	11	46	14	37	3	—	—
	x	40,2 ^c	12,4 ^a	43,6 ^c	3,6 ^b		

Keterangan :

- (+) bak = mengandung bakteri
- (-) bak = tidak mengandung bakteri
- = tidak ada
- * = rata-rata

Tabel 5. Gambaran lekosit darah itik yang diinfeksi *P. multocida* pada 8 jam setelah infeksi

Kelompok	Nomor Itik	Heterofil		Limfosit	Monosit	Bakteri	
		(+) bak	(-) bak			dalam sel	bebas
Kontrol	95	0	19	76	5	—	—
	79	0	10	81	9	—	—
	87	0	17	75	8	—	—
	78	0	16	78	6	—	—
	88	0	17	77	6	—	—
	x*	0 ^a	15,8 ^a	77,4 ^a	6,8 ^a		
Infeksi	30	58	17	30	5	+	—
	22	70	5	24	1	+	—
	6	44	13	39	4	+	—
	1	69	6	23	2	+	—
	7	66	11	19	4	+	—
	x	61,4 ^c	10,4 ^a	27,0 ^c	3,2 ^c		

Keterangan :

- (+) bak = mengandung bakteri
- (-) bak = tidak mengandung bakteri
- = tidak ada
- * = rata-rata

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan patologi anatomi mulai muncul pada itik yang diinfeksi bakteri *Pasteurella multocida* pada 4 jam setelah infeksi berupa titik perdarahan pada epikardium dan hiperemi pada usus. Perubahan patologi yang muncul bertambah parah dengan bertambahnya waktu infeksi.

Itik yang diinfeksi, yang mati selama penelitian menunjukkan gejala septikemia. Perubahan pada organ tubuh berupa titik perdarahan pada epikardium, pleura dan selaput otak; hiperemi dan peningkatan jumlah mukus pada usus; hiperemi pada proventrikulus, laring dan otak; limpa sedikit membengkak; edema dan pembendungan pada paru-paru; pem-

bendungan pada hati serta nekrose pada tempat inokulasi.

Pada itik yang diinfeksi jumlah heterofil lebih banyak dibandingkan dengan kontrol, sebaliknya jumlah monosit dan limfosit lebih sedikit pada 2, 4 dan 8 jam setelah infeksi. Pada 2, 4 dan 8 jam setelah infeksi ditemukan sel heterofil yang mengandung bakteri. Bakteri yang bebas di dalam darah ditemukan pada 4 dan 8 jam setelah infeksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Drh. Hernomoadi, MVS., Dr. Bibiana W. Lay, Drh. S. Hastowo, MSc., dan Drh. Soetijono Partosoedjono, MSc. yang telah memberikan bimbingan selama penelitian.

PATHOLOGICAL CHANGES AND LEUKOCYTE DIFFERENTIATION IN DUCK EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *Pasteurella multocida*

ABSTRACT

Sixty, five-week-old ducks were allocated into two groups of each thirty animals. Group I was experimentally infected with a field isolated strain of *Pasteurella multocida* whereas Group II served as uninfected controls. Blood samples for leucocyte differentiation were taken from all experimental animals at 1, 2, 4 and 8 hours post infection (p.i.), and subsequently 5 ducks from each group were necropsied.

Lesions in the infected animals were found in the necropsy at 4 hour p.i. onwards. The infected animals showed signs of general septicemia and hyperemia. Starting at 2 hour after infection, Group I animals exhibited a rise in the number of heterophile whereas the number of lymphocyte and monocyte in this group were significantly lower compared with uninfected controls.

DAFTAR PUSTAKA

- Carpenter, T.E., K.P. Snipes, D. Wallis, R.h. McCapes. 1988. Epidemiology and financial impact of fowl cholera in turkeys : a retrospective analysis. *Av. Dis.* 32 : 16-23.
- Ficken, M.D., H.J. Barnes. 1989. Acute airsacculitis in turkeys inoculated with *Pasteurella multocida*. *Vet Pathol.* 26 : 231-237.
- Gordon, R.F., F.T.W. Jordan, 1982. Poultry Disease. 2nd Balilliere Tindal, London. 401 pp.
- Hunter, B., G. Wobeser. 1980. Pathology of experimental avian cholera in Mallard ducks. *Av. Dis.* 24 : 403-414.
- Rhoades, K.R., and R.B. Rimler. 1991. Pasteurellosis. In: Disease of Poultry. 9 th Ed. B.W. Canek, J.H. Barnes, C.W. Beard, W.M. Reid, and Yoder Jr. (eds). Iowa State University Press, Ames. pp. 145-162.
- Sander, J.E. and J.R. Glisson, 1989. fowl cholera in broilers. *Av. Dis.* 33 ; 816-819.
- Snipes, K.P., G.Y. Ghazikhanian, D.C. Hirsh. 1987. Fate of *Pasteurella multocida* in the blood vascular system of turkeys following intravenous inoculation : Comparison of an encapsulated virulent strain with its avirulent, acapsular variant. *Av. Dis.* 31 : 254-259
- Tsuji, M. and M. Matsumoto. 1989. Pathogenesis of fowl cholera : Influence of encapsulation on the fate of *Pasteurella multocida* after intravenous inoculation into turkeys. *Av. Dis.* 33 : 238-247.