

Penggunaan *Microscopic Agglutination Test (MAT)* dalam Pendiagnosaan *Leptospira sp.* di Anjing

(*Microscopic Agglutination Test (MAT) as Diagnostic Test for Canine Leptospirosis*)

Erika*, Agus Efendi¹, Sharon Gunardi¹, Khairiza Asri¹

¹Praktek Dokter Hewan Bersama (PDHB) drh Cucu K Sajuthi, Tanjung Priok, Kota Jakarta Utara,
Daerah Khusus Ibukota Jakarta 14340

*Penulis untuk korespondensi: rikaerikarika@gmail.com

Diterima 14 Agustus 2022, Disetujui 26 September 2022

ABSTRAK

Leptospirosis merupakan penyakit infeksius yang dapat menyerang berbagai macam hewan termasuk anjing dan kucing. Leptospirosis memiliki potensi zoonosis, sehingga diperlukan konfirmasi diagnosa definitif pada pasien yang dicurigai mengalami leptospirosis. Penegakan diagnosis penting bagi sektor kesehatan masyarakat karena anjing dan kucing yang terinfeksi *Leptospira sp.* dapat menyebarkan organisme melalui urine ke lingkungan. *Microscopic agglutination test (MAT)* merupakan *gold standard* diagnosis leptospirosis. Namun, MAT memiliki keterbatasan dalam sensitivitas dan spesifisitas uji karena bekerja dengan mendeteksi antibodi di dalam serum. Pengulangan uji MAT diperlukan untuk peneguhan diagnosis, khususnya apabila diuji pertama nilai titer antibodi tidak meningkat signifikan. Empat kasus anjing ditangani di Praktek Dokter Hewan Bersama (PDHB) drh Cucu Kartini Sajuthi dkk dengan gejala klinis selaput lendir *jaundice*, muntah, diare, serta pemeriksaan darah menunjukkan peningkatan nilai *blood urea nitrogen* dan kreatinin menggambarkan adanya gangguan fungsi ginjal dan peningkatan nilai *serum glutamic pyruvic transaminase* serta *alkaline phosphatase* menggambarkan adanya kerusakan dari sel-sel hati. Munculnya gejala klinis dan kelainan gambaran darah tersebut mendorong timbulnya kecurigaan pasien terinfeksi *Leptospira sp.* Pengujian MAT dilakukan di Balai Besar Penelitian Veteriner (BB Litvet) Bogor. Pengujian dilakukan berulang dengan jeda waktu 7-14 hari. Peningkatan titer antibodi sebanyak empat kali lipat atau lebih mengindikasikan kuat adanya infeksi *Leptospira sp.* Dari empat kasus yang disajikan terdapat tiga pasien yang mengalami peningkatan titer antibodi ≥ 4 kali lipat pada pengujian MAT kedua sedangkan satu pasien lainnya tidak mengalami peningkatan titer antibodi. Studi ini menyimpulkan bahwa pengujian MAT aplikatif dalam diagnosis leptospirosis di klinik, namun diperlukan pengulangan pengujian dengan jeda waktu 7-14 hari.

Kata kunci: anjing, leptospirosis, MAT, diagnosis, antibodi

ABSTRACT

Leptospirosis is an infectious disease that can affect various kinds of animals including dogs and cats. Leptospirosis has a zoonotic potential, therefore it is necessary to confirm a definitive diagnosis in patients suspected infection by leptospirosis. Establishing a diagnosis is important for the public health sector because dogs and cats infected with *Leptospira sp.* can spread organisms through urine to the environment. *Microscopic agglutination test (MAT)* is the gold standard for diagnosing leptospirosis. However, MAT has limitations in the sensitivity and specificity of the test because it works by detecting antibodies in the serum. A repeat of the MAT test is necessary to confirm the diagnosis, especially if the antibody titer value is not significantly increased in the first test. Four cases of dogs treated at the Joint Veterinary Practice (PDHB) drh Cucu Kartini Sajuthi with clinical symptoms of jaundice mucous membrane, vomiting, diarrhea, and blood tests showed an increase in blood urea nitrogen and creatinine values indicating impaired kidney function and an increase in serum glutamic pyruvic values transaminase and alkaline phosphatase indicating the impaired of liver cells. The emergence of clinical symptoms and abnormalities in the blood picture led to the suspicion of the patient being infected with *Leptospira sp.* The MAT test was carried out at the Center for Veterinary Research (BB Litvet) Bogor. The test was repeated with interval of 7-14 days. An increase in antibody titer fourfold or more indicates a strong presence of *Leptospira sp.* Of the four cases presented, three patients had a 4-fold increase in antibody titer on the second MAT test while one patient did not have an increase in antibody titer. This study concludes that MAT testing is applicable in the clinical diagnosis of leptospirosis, but it is necessary to repeat the test with an interval of 7-14 days.

Keywords: Dog, Leptospirosis, MAT, diagnose, antibody

PENDAHULUAN

Leptospirosis merupakan penyakit infeksius yang dapat terjadi di berbagai belahan bumi serta menyerang berbagai hewan termasuk hewan domestikasi seperti anjing dan kucing. Leptospirosis bersifat zoonotik atau dapat menular ke manusia sehingga penting untuk dilakukan konfirmasi diagnosa yang tepat. Leptospirosis disebabkan oleh spesies *Leptospira interrogans* yang merupakan bakteri berbentuk *spirochete*. Lebih dari 250 serovar patogen dari spesies *L. interrogans* telah teridentifikasi dikelompokkan menjadi 24 serogrup (Ettinger et al., 2017). Sedikitnya sekitar 10 serovar telah diketahui berperan penting dalam menginfeksi anjing dan kucing (Greene, 2012). Awalnya infeksi akut leptospirosis pada anjing sering diasosiasikan dengan infeksi dari serogrup Canicola dan Icterohaemorrhagiae, namun beberapa penelitian telah membuktikan banyak infeksi leptospirosis pada anjing yang disebabkan oleh serogrup lain seperti Grippotyphosa, Pomona, Autumnalis, dan Sejroe (Ward et al., 2004). Serovar *L. interrogans* Celledoni diketahui menyebabkan leptospirosis subklinis sedangkan Bataviae menyebabkan leptospirosis klinis pada anjing di Yogyakarta (Mulyani et al., 2019). Serovar-serovar yang ada dalam vaksin untuk saat ini adalah serogrup Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, dan Pomona. Belum ada vaksin yang dapat mencakup serovar lain.

Transmisi dari leptospirosis dapat terjadi melalui kontak langsung maupun tidak langsung. Secara langsung *Leptospira* sp. ditularkan melalui kontak dengan urin terinfeksi, venereal, trans plasental, gigitan, atau memakan jaringan yang terinfeksi. Secara tidak langsung, leptospirosis menyebar melalui sumber air atau tanah yang terkontaminasi (Greene, 2012). Anjing yang terinfeksi dapat menunjukkan gejala klinis yang luas mencakup temuan klinis selaput lender kekuningan, gangguan fungsi hati dan ginjal, hemoragi, gangguan pada organ paru, atau gejala klinis ringan bahkan asimtomatis (Andre-Fontaine, 2006). Pemeriksaan penunjang perlu dilakukan untuk mendapatkan diagnosis penyakit yang definitif. Uji terhadap leptospirosis dikelompokkan menjadi uji serologis seperti *Microscopic agglutination test* (MAT) dan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), serta uji identifikasi mikroorganisme seperti *dark-field microscopy*, kultur bakteri, dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Schuller, 2015). Uji MAT saat ini merupakan *gold standard* dari diagnosis leptospirosis. Hasil didapatkan dari interpretasi sampel titer antibodi

dengan pelarutan tertinggi yang dapat mengaglutinasi. Sampel satuan dinyatakan positif leptospirosis apabila terjadi aglutinasi pada pelarutan $\geq 1:400$, atau terdapat peningkatan tingkat pelarutan yang positif aglutinasi sekurangnya 4 kali lipat pada pengambilan sampel kedua dengan jarak 2–3 minggu (Schuller et al., 2015). Dengan hasil titer MAT pertama diangka >1600 atau lebih dapat dinyatakan terdiagnosa leptospirosis, dengan kondisi hewan tersebut belum pernah vaksin sebelumnya. Pengambilan sampel berulang sebaiknya dilakukan untuk membedakan antibodi yang dapat muncul akibat respon vaksinasi, paparan leptospirosis sebelumnya, atau infeksi leptospirosis yang aktif sedang berjalan (Goldstein, 2010).

Ketika terjadi infeksi *leptospira*, bakteri *Leptospira* akan berada dalam darah dan tubuh akan membentuk IgM, IgM dapat berada dalam darah sampai beberapa bulan sehingga pemeriksaan antibodi IgM dapat menyebabkan *false-positive*. Pemeriksaan dengan menggunakan masing-masing uji memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihan dari MAT adalah sebagai *Gold standart* pemeriksaan *Leptospira* sp. dan dapat mengetahui serovar yang menginfeksi sehingga dapat mengetahui dan memperkirakan kondisi hewan yang dapat terganggu. Kekurangan dari MAT adalah kurang sensitif pada awal-awal terinfeksi karena yang terdeteksi adalah antibodi sehingga dibutuhkan pengulangan pengujian MAT untuk diagnosa, sulit mempertahankan strain antigen hidup (Suman, 2014).

BAHAN DAN METODE

Sampel yang digunakan diambil dari empat ekor anjing yang ditangani di di Praktek Dokter Hewan Bersama (PDHB) drh Cucu Kartini Sajuthi yang dicurigai terinfeksi *leptospira* sp. yang dilihat dari gejala klinis, pemeriksaan fisik, sejarah, anamnesa, dan hasil darah. Keempat ekor anjing tersebut memiliki gejala klinis selaput lender kekuningan, *lethargy*, muntah, dan diare. Hasil darah pada kasus-kasus dari hasil darah tersebut terlampir pada tabel 1 nampak adanya kesamaan bahwa hewan-hewan tersebut terjadi gangguan fungsi hati dan atau diikuti dengan gangguan fungsi ginjal. Berdasarkan gejala klinis pemeriksaan fisik, sejarah, anamnesa, dan hasil darah yang mengerucutkan kecurigaan terinfeksi *Leptospira* sp, dilakukan pemeriksaan lanjutan yaitu uji *Microscopic agglutination test* (MAT) untuk membantu menegakkan diagnosa.

Microscopic agglutination test (MAT)

Sampel yang digunakan adalah sampel darah sebanyak dua mililiter, yang dimasukkan ke dalam *vacutainer* sst tube. Lalu sampel darah tersebut dikirim ke Balai Besar Penelitian Veteriner (BB Litvet) Bogor, untuk dilakukan pengujian MAT.

HASIL

Hasil pemeriksaan terlampir pada tabel 2.1; tabel 2.2; tabel 2.3; dan tabel 2.4. nampak adanya perbedaan titer pada pemeriksaan MAT pertama dengan pemeriksaan MAT kedua. Pada MAT pertama didapatkan ada bebe

Pemeriksaan dengan menggunakan pengulangan MAT pada hari ke 7–14 menunjukkan ada tiga kasus pasien yang terkonfirmasi positif, dan satu kasus terkonfirmasi negatif. Kondisi hewan dengan anamnesa, gejala klinis, hasil darah yang serupa belum tentu positif *Leptospirosis*.

PEMBAHASAN

Pemeriksaan sampel dari hewan yang dicurigai terinfeksi *Leptospira sp.* Ketika pengambilan sampel jika dilakukan hanya sekali, sering kali menunjukkan hasil negative MAT ataupun false positive yang diakibatkan post vaksinasi dan cross reaction. Jika hasil MAT pertama angka titer diatas 1:100 dilakukan pengujian MAT kedua. Ketika hasil titer diangka diatas 1600, ditinjau Kembali apakah pernah vaksinasi atau belum; jika belum vaksinasi hewan tersebut bisa dinyatakan terinfeksi leptospira, tetapi jika sudah pernah tervaksinasi dilakukan pemeriksaan pengulangan MAT kedua. Disarankan untuk dilakukan uji antibodi pada periode akut dan masa pemulihan, menunggu satu sampai dua minggu untuk dilakukan pengujian kembali agar menunjukkan apakah terjadi adanya cross reaction dan memang hewan tersebut terinfeksi *leptospira sp.*

Peningkatan titer 4 kali lipat saat hasil MAT kedua jika dibandingkan dengan hasil MAT pertama, mengindikasikan adanya infeksi yang sedang terjadi, meskipun sudah diberikan terapi. Titer dapat dihasilkan dari vaksinasi sebelumnya, paparan atau infeksi kronis umumnya berubah lebih lambat atau tidak sama sekali. (Sykes *et al.*, 2015)

Tabel 1. Hasil pemeriksaan darah

	WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	SGPT (U/L)	ALP (U/L)	BUN (mg/dL)	CRE (mg/dL)
Anjing 1	19,5	220	1686	283	4.5
Anjing 2	41	87	1692	161	3
Anjing 3	37,5	Normal	Normal	492	7
Anjing 4	Normal	Normal	747	248	5

Tabel 2.1 Hasil MAT Anjing 1

Anjing 1	MAT Pertama	MAT Kedua
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1 : 100	1 : 100
<i>Bataviae</i>	1 : 400	1 : 1600
<i>Tarassovi</i>	-	1 : 400
<i>Celedoni</i>	-	1 : 100

Tabel 2.2 Hasil MAT Anjing 2

Anjing 2	MAT Pertama	MAT Kedua
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1 : 100	1 : 400
<i>Bataviae</i>	1 : 1600	1 : 1600
<i>Tarassovi</i>	-	-
<i>Celedoni</i>	-	1 : 400

Tabel 2.3 Hasil MAT Anjing 3

Anjing 3	MAT Pertama	MAT Kedua
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1 : 100	1 : 100
<i>Bataviae</i>	1 : 100	1 : 100
<i>Tarassovi</i>	-	-
<i>Celedoni</i>	-	-

Tabel 2.4 Hasil MAT Anjing 4

Anjing 4	MAT Pertama	MAT Kedua
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1 : 100	-
<i>Bataviae</i>	1 : 100	1 : 400
<i>Tarassovi</i>	-	-
<i>Celedoni</i>	-	-

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada tim rawat inap PDHB drh Cucu Kartini Sajuthi dkk; bagian Laboratorium PDHB drh Cucu Kartini Sajuthi dkk; Balai Besar Penelitian Veteriner (BB Litvet) Bogor, dan kepada pemilik-pemilik hewan tersebut.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak terkait dalam penelitian ini “

DAFTAR PUSTAKA

- Andre-Fontaine G. 2006. Canine leptospirosis- do we have a problem?. *Vet Microbiol* 117:19–24
- Ettinger SJ, Feldman EC, Cote E. 2017. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Ed ke-8. Missouri (USA): Elsevier.
- Goldstein R. E.2010. Canine Leptospirosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 40(6):1091–1101.
- Greene CE. 2012. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Ed ke-4. Missouri (US): Saunders Elsevier.
- Mulyani GT, Hartati S, Wuryastuti H, Tjahajati I, Yuriadi, Widiyono I, Yanuartono, Purnamaningsih H, Indarjulianto S, Raharjo S, Nururozi A, Ganapragasam A, Jiao YS. 2019. Identifikasi serovar penyebab leptospirosis pada anjing di Yogyakarta. *JSV* 37(2):227–231.
- Schuller S, Francey T, Hartmann K, Hugonnard M, Kohn B, Nally JE, Sykes J. 2015. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *J Small Anim Pract.*56:159-79.
- Veerappa, SB, Perwez K, 2014. Leptospirosis Diagnosis: Competancy of Various Laboratory Tests. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 8(1):199–202.
- Ward MP, Guptill LF, Prah A, Wu CC. 2004. Serovar-specific prevalence and risk factors for leptospirosis among dogs: 90 cases (1997-2002). *J Am Vet Med Assoc* 224:1958–1963.