

## ***Microscopic Agglutination Test (MAT) untuk Diagnosis Leptospirosis pada Manusia***

I Made Setiawan

Rumah Sakit Penyakit Infeksi Prof. Sulianti Saroso

### **Abstrak**

Leptospirosis adalah penyakit pada manusia dengan gejala yang sangat bervariasi, sehingga sulit dibedakan dengan penyakit lain. Sampai saat ini, untuk diagnosis standar penyakit leptospirosis masih dengan pemeriksaan serologis menggunakan tes *microscopic agglutination test* (MAT). Sebenarnya tes MAT mempunyai banyak kelemahan, karena untuk melakukannya diperlukan antigen hidup dari semua serovar yang ada, terutama serovar yang endemis di daerah pemeriksaan. Untuk memenuhi kebutuhan antigen, maka dilakukan pembiakan bakteri secara terus-menerus yang mempunyai risiko tinggi bagi petugas yang melakukannya. Disamping itu, untuk menilai hasil MAT sampel tunggal sangat sulit, karena pada penderita masih ada titer agglutinin yang persisten, dan adanya variasi titer antibodi yang sangat dipengaruhi oleh banyaknya paparan yang terjadi di masing-masing daerah, sehingga sampel perlu diambil dua kali (pada fase akut dan pada fase konvalesen), agar peningkatan titer yang terjadi antara sampel pertama dan kedua dapat dinilai. Nilai peningkatan titer MAT yang dianggap positif, bila terdapat peningkatan titer empat kali lipat antara sampel pertama dan kedua. Bila sampel hanya diambil satu kali, penilaian dapat dilakukan dengan melihat tingginya titer hasil MAT. Nilai titer yang dianggap positif untuk daerah non-endemis adalah 1:200, sedangkan untuk daerah endemis 1:800, atau malahan disarankan 1:1600. Walaupun demikian, tes MAT tetap menjadi rujukan untuk tes serologis yang lain, karena tes-tes ini sering bereaksi silang dengan antibodi yang disebabkan oleh penyakit lain.

**Kata kunci:** leptospirosis, *microscopic agglutination test* (MAT)

## **Microscopic Agglutination Test (MAT) for Leptospirosis Diagnosis**

### **Abstract**

Leptospirosis is a disease infecting human that has varying symptoms which makes it difficult to differentiate to other diseases. Currently, diagnosing this disease is performed by serological examination using microscopic agglutination test (MAT). However, MAT has many limitations since to perform it, living antigens from the whole serovar is needed, especially serovar in the examined regions. To cope with the demand of the antigen, bacteria is continuously cultured which leads to high risks for the on-duty staff. Furthermore, to score a single MAT sample is very difficult due to the fact that persistent agglutinin titer still exist in the patient and variation of antibodies' titer which is influenced by the frequent exposure in each regions. Hence, sample need to be taken twice (during the acute phase and the convalescent phase) to evaluate the titer increase between the first and the second sample. The increase value of the MAT's titer can be considered positive if the increase in the titer become four-fold from the first to the second sample. If the sample is taken once only, evaluation can be performed by observing the high titer of MAT's result. Finally, the positive titer score for non-endemic areas is 1:200, while for endemic areas is 1:800, even to 1:1600. However, the MAT is still a reference for other serological tests as other tests are commonly cross-reacting with other diseases antibodies.

**Key words:** Leptospirosis, laboratory, microscopic agglutination test (MAT)

## **Pendahuluan**

Leptospirosis merupakan penyakit dengan gejala umum demam, yang biasanya ditemukan di daerah tropis dengan kelembaban tinggi, seperti misalnya di Indonesia. Diagnosis dini penyakit adalah sangat penting, karena jika ini tidak mendapat pengobatan dengan cepat maka penyakit akan berkembang menjadi berat, sehingga tingkat kematian tinggi. Gejala penyakit yang berat biasanya ditandai dengan timbulnya gejala ikterus, gagal ginjal akut, komplikasi perdarahan, gagal jantung, aritmia jantung, dan gagal nafas<sup>1-7</sup>.

Tingkat kematian penyakit leptospirosis di Indonesia masih belum diketahui. Costa *et.al*<sup>7</sup> menemukan tingkat kematian di Salvador adalah 12%. Tingginya tingkat kematian ini sebagian disebabkan oleh sudah beratnya penyakit pada penderita yang dirawat. Risiko kematian yang lebih tinggi terutama terjadi pada penderita yang membutuhkan perawatan dengan alat bantu pernapasan atau pada penderita yang mengalami gagal ginjal akut. Risiko kematian yang tinggi juga disebabkan oleh pengobatan yang terlambat. Oleh karena itu, sangat penting untuk membedakan antara penyakit leptospirosis dengan penyakit panas yang lain pada fase akut sedini mungkin, sehingga pengobatan dapat dilakukan dengan segera.<sup>7</sup>

Yang paling baik, diagnosis pasti ditegakkan berdasarkan isolasi bakteri dari dalam darah maupun urin, akan tetapi pemeriksaan ini memerlukan waktu cukup lama agar bakteri dapat berkembang dan tumbuh dalam biakan. Oleh karena itu diagnosis biasanya ditegakkan berdasarkan gejala klinik dan tes serologis. Tes serologis yang digunakan secara internasional dan sebagai metode pemeriksaan rujukan adalah *microscopic agglutination test* (MAT).<sup>8,9</sup>

Dalam hal ini, suspensi antigen hidup dititrasi dengan serum penderita, kemudian aglutinasi yang terjadi diamati dengan mikroskop. Untuk melakukan, menilai, dan memelihara antigen hidup yang akan digunakan dalam teknik ini memerlukan keahlian.<sup>10</sup> Oleh karena itu, dikembangkan tes serologis yang lain seperti ELISA atau dipstick, yang hasilnya harus dikonfirmasi dengan pemeriksaan MAT. Dalam tulisan ini selanjutnya akan dibahas tentang pemeriksaan MAT untuk mendiagnosis leptospirosis pada manusia.

## **Microscopic Agglutination Test (MAT)**

Walaupun sudah dikembangkan berbagai teknik pemeriksaan untuk diagnosis penyakit leptospirosis, namun tes serologis yang menjadi pilihan utama dalam mendiagnosis penyakit leptospirosis di seluruh dunia adalah MAT. Dulu, tes ini disebut *agglutination-lysis test*, karena dalam tes ini terjadi lisis bola-bola atau lisis globuler kotoran-kotoran yang berasal dari sel bakteri bila dicampur dengan antiserum yang mempunyai titer tinggi. Tes ini pertama kali diciptakan oleh Martin dan Pettit pada tahun 1918, selanjutnya dikembangkan oleh para ahli yang lain<sup>11</sup>. Seperti sudah dijelaskan sebelumnya, prinsip tes ini adalah, serum penderita direaksikan dengan suspensi antigen serovar *leptospira* hidup. Setelah diinkubasi, campuran antigen-serum diamati dengan mikroskop untuk melihat adanya aglutinasi, kemudian titer antibodi ditentukan berdasarkan pengenceran terakhir yang masih menunjukkan adanya aglutinasi<sup>12</sup>.

## **Antigen yang digunakan**

Antigen yang digunakan adalah semua jenis serovar leptospira yang masih hidup. Bakteri yang digunakan untuk antigen juga dapat dalam keadaan mati. Untuk memenuhi kebutuhan antigen bakteri hidup maupun mati, maka perlu dilakukan pembiakan semua jenis serovar leptospira<sup>11</sup>.

Antibodi terhadap serovar yang menginfeksi akan timbul dalam tubuh penderita leptospirosis. Disamping itu, sering ditemukan antibodi yang bereaksi silang dengan serovar lain, terutama pada stadium dini. Pada minggu pertama sakit, reaksi silang heterologous dengan serovar lain mungkin

lebih kuat dibandingkan dengan reaksi homologous oleh serovar yang menginfeksi. Kadang-kadang reaksi heterologous dapat positif, sementara reaksi homologous negatif. Fenomena ini disebut reaksi paradoxical. Titer antibodi yang bereaksi silang cenderung menurun lebih cepat setelah berbulan-bulan, sementara antibodi spesifik serogrup dan serovar bertahan dalam waktu lama sampai bertahun-tahun<sup>11</sup>.

Karakteristik hasil pemeriksaan yang sering<sup>11</sup>:

1. Antibodi sering hanya bereaksi dengan antigen serovar atau serogrup tertentu;
2. Jenis serovar yang beredar sangat banyak, dan hanya beberapa serovar menyebabkan penyakit pada daerah tertentu.
3. Prevalensi berbagai serovar pada daerah tertentu mungkin berubah sebagai akibat masuknya pejamu baru, adanya perubahan sistem pertanian, dsb.
4. Masuknya jenis serovar baru ke dalam suatu daerah.

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka panel leptospira hidup harus terdiri dari berbagai serovar, yang harus dipelihara di dalam laboratorium untuk pemeriksaan MAT. Panel antigen harus mengandung serovar yang beredar di daerah pemeriksaan. Jika panel tidak lengkap, maka antibodi terhadap serovar yang tidak ada pada panel tidak akan dapat dideteksi dan serodiagnosis akan memberikan hasil negatif palsu sehingga hasil yang diperoleh tidak akurat. Jika serovar yang beredar di daerah pemeriksaan tidak diketahui atau berubah, maka panel harus mengandung serovar yang dapat mewakili seluruh serogrup.<sup>11</sup>

Hasil pemeriksaan MAT sering memperlihatkan titer antibodi terhadap isolat lokal lebih tinggi dibandingkan titer antibodi terhadap galur serovar stok laboratorium, walaupun jenis serogrupnya sama. Tujuan penggunaan banyak jenis serovar sebagai antigen pada pemeriksaan MAT adalah agar dapat mendeteksi infeksi yang disebabkan oleh jenis serovar yang tidak umum ditemukan pada suatu daerah, atau jenis serovar yang sebelumnya tidak pernah terdeteksi pada suatu daerah.<sup>13</sup>

Dengan demikian, galur *Leptospira* yang dipilih harus terdiri dari galur-galur yang mewakili semua serogrup yang penting atau dipilih berdasarkan: (1) serovar yang paling banyak menginfeksi pada daerah pemeriksaan tertentu, dan (2) serovar atau serogrup yang sudah diketahui berdasarkan data epidemiologi yang sudah dimiliki. Daftar serovar yang disarankan sebagai antigen referensi antigen untuk mengidentifikasi infeksi serovar yang belum diketahui menggunakan pemeriksaan MAT terdapat pada tabel 1.

**Tabel 1. Serovar yang disarankan sebagai antigen dalam pemeriksaan MAT<sup>11</sup>**

Serogrup	Serovar	Galur
Australis	Australis	Ballico
Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
Bllun	Castellonis	Castellon 3
Bataviae	Bataviae	Swart
Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
Cynopteri	Cynopteri	3522 C
Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
	Copenhageni	M20
Javanica	Javanica	Veldrat Batavia 46

Panama	Panama	CZ214
Pomona	Pomona	Pomona
Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno
	Sejroe	M84
	Wolffi	3705
Tarassovi	Tarassovi	Perepeletsin
Semaranga	Patoc	Patoc 1

Galur lokal sering menunjukkan sensitifitas tes lebih tinggi jika dibandingkan dengan galur referensi. Galur ini juga dapat dimasukkan sebagai antigen. Jumlah serovar yang dipakai sebagai antigen sebaiknya tidak terbatas pada galur lokal, terutama jika penyebab infeksi diperkirakan oleh serovar yang jarang atau galur penyebab infeksi di daerah tersebut belum diketahui. Berdasarkan alasan ini juga, galur saprofit (*L. biflexa* galur PatocI) harus dimasukkan sebagai antigen, karena dapat bereaksi silang dengan antibodi manusia yang dirangsang oleh sejumlah serovar patogen. Juga perlu untuk menambahkan serovar lain yang mewakili serogrup yang belum termasuk dalam panel antigen.<sup>11</sup>

Untuk mengatasi kesulitan penggunaan antigen hidup, maka digunakan bakteri mati. Bakteri umumnya dibunuh dengan formalin. Kelemahan pemeriksaan MAT jika menggunakan antigen mati, adalah titer antibodi yang diperoleh biasanya sedikit lebih rendah, dan reaksi silang lebih sering ditemukan. Kualitas aglutinasi yang terjadi pada antigen mati berbeda dengan kualitas aglutinasi pada antigen hidup. Bagi laboratorium yang tidak memiliki tenaga ahli untuk memelihara antigen hidup, maka antigen yang dicampur formalin merupakan alternatif yang cukup baik.<sup>13</sup>

### Penilaian terhadap hasil reaksi MAT

MAT biasanya dibaca dengan mikroskop lapangan gelap. Titik akhir pembacaan adalah pengenceran serum yang tertinggi dengan aglutinasi 50%. Karena untuk mendeteksi aglutinasi leptospira 50% sangat sulit, maka titik akhir ditentukan berdasarkan adanya 50% leptospira bebas yang tidak diaglutinasi kemudian dibandingkan dengan suspensi antigen kontrol. Usaha yang perlu dilakukan adalah mengurangi efek subyektivitas dari variasi pengamat, termasuk yang terjadi di laboratorium.<sup>13</sup>

Penilaian terhadap hasil MAT sangat rumit, karena sering terjadi reaksi silang antara berbagai serogrup dan ditemukan titer yang sama terhadap seluruh serovar dari serogrup, terutama terjadi pada sampel fase akut. Ada juga ditemukan reaksi yang berlawanan, dimana titer yang tertinggi ditemukan terhadap serogrup yang tidak menginfeksi. Pada sampel yang diambil pada fase akut, sering terjadi reaksi silang yang sangat luas, sedang sampel yang diambil pada fase konvalesen, spesifisitas serogrup relatif lebih tinggi. Hal ini disebabkan karena MAT dapat bereaksi dengan antibodi IgM, IgG dan antibodi terhadap beberapa antigen umum yang dimiliki oleh berbagai serovar leptospira.<sup>13</sup>

Pemeriksaan MAT juga sangat dipengaruhi oleh adanya antibodi persisten yang disebabkan oleh infeksi leptospira sebelumnya di dalam masyarakat. Disamping itu, penilaian dapat juga dipersulit oleh adanya antibodi terhadap penyakit lain, yang dapat bereaksi silang dengan antigen leptospira seperti misalnya, legionellosis, hepatitis, dan penyakit autoimun.<sup>11</sup>

Untuk memastikan diagnosis, maka diperlukan sepasang sampel serum yaitu sampel serum pada fase akut dan sampel serum pada fase konvalesen. Peningkatan empat kali lipat atau lebih antara titer sampel serum pertama dan kedua dapat dipakai untuk memastikan diagnosis tanpa memperhatikan jarak waktu pengambilan sampel pertama dan kedua. Jarak pengambilan sampel pertama dan kedua sangat tergantung pada munculnya gejala pada penderita. Bila gejala khas untuk leptospirosis sudah muncul maka jarak pengambilan sampel pertama dan kedua antara 3-5 hari sudah cukup untuk mendeteksi peningkatan titer antibodi. Pada keadaan Penyakit yang ditemukan lebih dini sehingga

gejala tidak jelas atau jika saat munculnya gejala tidak diketahui dengan pasti, maka jarak pengambilan sampel pertama dan kedua sebaiknya berselang waktu antara 10 - 14 hari. Sangat jarang serokonversi tidak terjadi dalam selang waktu tersebut, sehingga bila perlu, selang waktu dapat diperpanjang.

Pemeriksaan serologis dengan metode MAT kurang sensitif, terutama untuk pemeriksaan serum fase akut dini.<sup>13</sup> Disamping itu, penderita dengan leptospirosis yang berat mungkin akan meninggal sebelum terjadinya serokonversi, sehingga pemeriksaan MAT pada penderita ini tidak dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis.<sup>12</sup>

Meskipun demikian terjadinya infeksi akut dapat diperkirakan dari pemeriksaan satu sampel dengan melihat adanya titer antibodi yang tinggi, yang dihubungkan dengan gejala penyakit leptospirosis yang muncul, seperti panas tinggi akut, dan gejala leptospirosis yang lebih spesifik, seperti sakit kepala, nyeri otot, dan ikterus.<sup>5</sup> Tingginya titer antibodi tersebut tergantung pada tingkat paparan yang ada di dalam populasi atau seroprevalensi pada populasi. Oleh karena itu, versi *Communicable Diseases Control* (CDC), titer  $\geq 1:200$  dapat digunakan sebagai dasar untuk mendiagnosis kasus *probable* dengan gejala klinis yang sesuai. Titer ini hanya dapat digunakan pada populasi dengan paparan leptospirosis yang jarang, sedangkan untuk negara dengan tingkat paparan yang lebih banyak seperti di negara tropis dengan kelembaban yang tinggi, maka nilai titer ini lebih tinggi. Di daerah dimana leptospirosis endemis, maka kasus *probable* leptospirosis ditentukan dari sampel tunggal dengan titer  $\geq 1:800$ , namun lebih disarankan dengan titer  $\geq 1.600$ .<sup>13</sup> Untuk memastikan diagnosis, pemeriksaan MAT satu kali sebaiknya dikombinasi dengan pemeriksaan ELISA untuk mendeteksi antibodi IgM. Bila ditemukan nilai MAT yang lebih tinggi dari nilai titik akhir (*end point*) titer positif dan hasil ELISA menunjukkan IgM positif, maka penderita sudah dapat dianggap positif menderita leptospirosis.<sup>5</sup>

Titer antibodi sesudah infeksi akut mungkin sangat tinggi ( $\geq 1:25.600$ ), sehingga membutuhkan waktu berbulan-bulan sampai bertahun-tahun untuk turun sampai ke tingkat yang rendah. Sering sangat sulit untuk membedakan serogrup yang dominan sampai berbulan-bulan sesudah infeksi, walaupun titer reaksi silang menurun dengan kecepatan yang berbeda. Jika mungkin, untuk mengetahui serogrup yang menginfeksi, maka perlu memeriksa beberapa sampel sera setelah fase infeksi akut, yang diambil dengan selang waktu tertentu. Kadang-kadang, serokonversi muncul sangat terlambat sampai berminggu-minggu setelah sembuh, sehingga diperlukan pengamatan serologis lebih lama untuk memastikan diagnosis.<sup>11, 13</sup>

Beberapa penderita mempunyai titer antibodi akibat sebelumnya diinfeksi oleh serogrup leptospira yang lain. Biasanya, titer  $\geq 1:100$  merupakan bukti terjadinya infeksi pada masa lalu. Dalam kasus ini, diagnosis serologis akan dipersulit oleh respons anamnestik, dimana antibodi yang muncul pertama biasanya ditujukan terhadap serovar yang menginfeksi sebelumnya. Kemudian, antibodi spesifik serovar atau serogrup yang baru menginfeksi dapat diidentifikasi setelah titernya meningkat, mengakibatkan penilaian serologis menjadi lebih rumit.<sup>11,13</sup>

Idealnya, titik potong (*Cut-off point*) dibuat berdasarkan perbandingan antara hasil tes serologis yang diperoleh dari penderita leptospirosis yang mempunyai hasil biakan positif dengan hasil tes serologis dari kelompok penderita leptospirosis yang didiagnosis berdasarkan hasil tes laboratorium yang lain. Akan tetapi, pendekatan ini tidak selalu dapat dilakukan, karena sangat sulit untuk mengumpulkan kelompok penderita leptospirosis positif yang representatif, sehingga usaha untuk membiakkan leptospira dari sampel klinik tidak selalu berhasil.<sup>11</sup>

MAT tidak dapat distandarisasi, karena antigen yang digunakan adalah leptospira hidup, sehingga hasil tes sedikit bervariasi dari hari ke hari. Berdasarkan alasan ini juga, agar MAT dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis dengan baik, dibutuhkan sepasang sampel serum yang diambil dengan selang waktu tertentu dan diperiksa secara bersamaan. Agar MAT dapat distandarisasi, maka digunakan antigen leptospira mati yang dicampur dengan formalin. Pemeriksaan

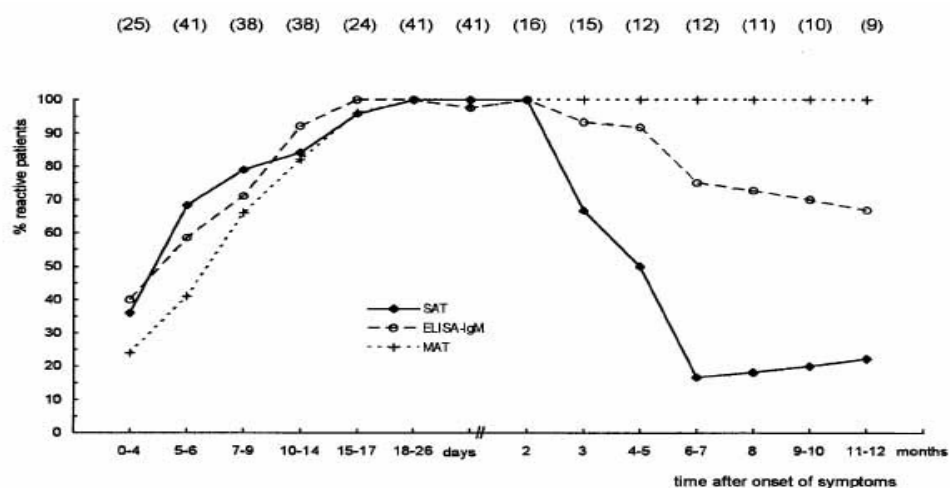
sebaiknya dilakukan menggunakan antigen dengan nomor *batch* yang sama. Sayangnya, persediaan antigen ini akan mengalami denaturasi hanya dalam beberapa minggu<sup>11</sup>.

### Sensitifitas MAT

Sensitivitas MAT pada fase dini penyakit biasanya rendah. Sensitifitas MAT meningkat cukup tinggi bila sampel diambil pada fase berikutnya<sup>17</sup>. Sensitifitas MAT pada pengambilan darah pertama pada fase akut adalah 30% dengan nilai perkiraan positif 88%, sedangkan sensitifitas pemeriksaan ELISA adalah 52% dengan nilai perkiraan positif 76%. Sensitifitas MAT meningkat pada pengambilan darah kedua pada fase konvalesen yaitu 63% dengan nilai perkiraan positif 92%, sedangkan sensitifitas ELISA menjadi 89% dengan nilai perkiraan positif 93%<sup>10</sup>.

Bharadwaj *et al* juga menemukan MAT kurang sensitif untuk mendeteksi antibodi pada fase dini penyakit dibandingkan dengan ELISA. Hal ini disebabkan, ELISA mendeteksi antibodi IgM lebih sensitif daripada MAT. Disamping itu, antibodi agglutinin belum muncul pada fase dini penyakit, dan mulai muncul pada minggu kedua penyakit. Oleh karena itu, untuk keperluan pengobatan penderita, disarankan menggunakan ELISA untuk mendiagnosis penyakit pada fase permulaan, dan selanjutnya perlu melakukan pemeriksaan MAT.<sup>18</sup> Pada fase akut penyakit mungkin hanya ada sedikit korelasi antara antibodi IgM dan MAT, sehingga memberikan sensitifitas yang lebih rendah pada fase ini. MAT umumnya dapat mendeteksi antibodi IgM maupun IgG secara bersamaan. Pada fase awal, sebagian besar penderita akan memperlihatkan munculnya respons antibodi IgM, kemudian antibodi IgG muncul pada fase konvalesen. Pada saat ini sensitifitas MAT baru meningkat<sup>5,13</sup>.

Brandao *et al*, membandingkan sensitifitas antara *slide agglutination test* (SAT), IgM-ELISA dan MAT. Dari hasil penelitian ini, ternyata MAT kurang sensitif untuk mendeteksi antibodi pada fase dini dibandingkan dengan SAT dan IgM-ELISA. Tes ELISA dan SAT memberikan hasil hampir sama. Akan tetapi, MAT tetap dapat mendeteksi antibodi dengan titer yang cukup tinggi pada serum penderita yang diambil satu tahun setelah sakit, sedangkan SAT dan ELISA sudah menurun<sup>17</sup>.



Gambar 1. Gambar perbandingan pemeriksaan MAT, SAT dan ELISA pada penderita leptospirosis yang diamati secara longitudinal (Brandao *et al.*, 1998)<sup>17</sup>

### Kekurangan MAT

Pemeriksaan MAT tidak dapat mendeteksi antibodi pada fase dini penyakit karena antibodi yang dapat dideteksi oleh MAT muncul terlambat walaupun antibodi yang terutama ikut terlibat dalam aglutinasi leptospira adalah antibodi IgM. Dengan demikian, diagnosis penyakit penderita yang

meninggal pada fase akut tidak dapat ditegakkan berdasarkan pemeriksaan MAT. Hal itu terjadi karena antibodi agglutinin belum terbentuk. Pada populasi endemis leptospirosis, tingginya titer hasil satu kali pemeriksaan tidak dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis, sehingga perlu pengambilan sampel dua kali dengan selang waktu tertentu (satu pada fase akut dan satu lagi pada fase penyembuhan)<sup>10,14,15</sup>

Untuk menilai hasil MAT tunggal diperlukan nilai seroprevalensi *Leptospira* asal daerah tempat pemeriksaan. Nilai ambang yang dipakai untuk menentukan infeksi positif atau negatif tergantung pada prevalensi leptospira asal di dalam populasi. Titer antibodi yang dapat dideteksi dengan MAT dapat bertahan sampai bertahun-tahun sesudah terjadi infeksi akut. Disamping itu, seseorang yang menderita leptospirosis sering mempertahankan antibodi IgM dan IgG dengan kadar tinggi sampai berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun,<sup>(10)</sup> hal itu mempersulit penilaian hasil pemeriksaan MAT pada infeksi berikutnya.

Pemeriksaan MAT memberikan hasil yang rendah terutama bila, (1) sampel diambil terlalu dini, (2) penderita mendapat pengobatan antibiotika dosis sangat tinggi pada permulaan fase akut, (3) penderita dengan gejala penyakit sangat berat, dan (4) juga pada penderita immunosupresi, sehingga hasil pemeriksaan MAT yang diperoleh meragukan.

Pemeriksaan MAT membutuhkan banyak jenis antigen dari berbagai jenis serovar leptospira, sehingga perlu memelihara dan membiakkan semua jenis serovar leptospira yang ada. Memelihara dan membiakkan banyak jenis serovar leptospira yang dilakukan setiap minggu, sangat berbahaya bagi para petugas, karena mereka dapat terinfeksi. Disamping itu, dalam proses pembiakan sering terjadi kontaminasi silang diantara serovar, sehingga perlu dilakukan verifikasi secara periodik terhadap masing-masing serovar. Titer MAT juga dapat dipengaruhi oleh medium tempat leptospira dibiakkan<sup>16</sup>

Pemeriksaan MAT sering memberikan hasil negatif palsu, bila serovar yang ada di daerah tersebut tidak dimasukkan ke dalam panel antigen, apalagi bila serovar yang ada di daerah tersebut adalah serovar baru yang belum ditemukan di daerah lain.<sup>(16)</sup> Oleh karena itu, hasil MAT negatif belum tentu dapat memastikan bahwa penderita tersebut bukan terinfeksi leptospira yang berasal dari daerah tersebut. Oleh karena itu, disarankan untuk melakukan pemeriksaan ELISA disamping melakukan pemeriksaan MAT.<sup>11</sup>

Untuk melakukan pemeriksaan MAT dibutuhkan tenaga ahli yang berpengalaman, dan untuk menyelesaikan pemeriksaan membutuhkan waktu lama. Disamping itu, untuk melakukan pemeriksaan sampel dengan jumlah yang banyak dan dengan teknik yang rumit, mengakibatkan kualitas hasil yang diperoleh biasanya sedikit meragukan.<sup>17</sup>

### **Manfaat MAT**

MAT dapat memberikan data tentang perkiraan serovar yang menginfeksi, sehingga dapat digunakan sebagai informasi epidemiologi yang berguna. MAT juga mempunyai sensitifitas dan spesifisitas cukup tinggi, sehingga dapat dipakai untuk mendiagnosis penyakit.<sup>11,14</sup>

MAT merupakan metode yang sangat cocok digunakan untuk epidemiologi survey serologi, karena ia dapat juga digunakan untuk mendeteksi serum dari spesies binatang, dan banyaknya antigen serovar yang digunakan dapat ditambah atau dikurangi tergantung kebutuhan. Informasi yang diberikan oleh MAT hanya kesan umum tentang serogrup yang terdapat dalam populasi. Kesimpulan tentang serovar yang menginfeksi secara pasti tidak dapat ditarik tanpa melakukan biakan bakteri.<sup>13</sup>

### **Daftar Pustaka:**

1. Marotto PC, Nascimento CMR, Neto JE, Marotto MS, Andrade L, Sztajn bok J, *et al.* Acute lung injury in leptospirosis: Clinical and laboratory features, outcome, and factors associated with mortality. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 1561- 63.
2. Im JG, Yeon KM, Han MC, Kim CW, Webb WR, Lee JS, *et al.* Leptospirosis of the lung: Radiographic findings in 58 patients. *AJR* 1989; 152: 955-958.
3. Travejo RT, Rigau-Peres JG, Ashford DA, McClure EM, Gonzalez CJ, Amador JJ, *et al.* Epidemic leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage—Nicaragua, 1995. *J Infect Dis* 1998; 178: 1457- 63.
4. Katz AR, Ansdell VE, Effler PV, Middleton CR, Sasaki DM. Assessment of the clinical presentation and treatment of 353 cases of laboratory-confirmed leptospirosis in Hawaii, 1974-1998. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1834-1841.
5. Natarajaseenivasan K, Prabu N, Selvanayaki K, Raja SSS, and Ratnam S. Human leptospirosis in Erode, South India: Serology, Isolation, and Characterization of the Isolates by Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) fingerprinting. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57: 193-197.
6. Ko AI, Reis MG, Dourado CMR, Johnson WD, Roley LW, the Salvador Leptospirosis Study Group. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. *Lancet* 1999; 354: 820-825.
7. Costa E, Lopes AA, Sacramento E, Costa YA, Matos ED, Lopez MB, *et al.* Penicillin at the late stage of leptospirosis: a randomized controlled trial. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2003; 43: 141-145.
8. Naigowit P, Wangroongsarb P, Petkanchanapong W, Luepaktra O, Warachit P. A comparative evaluation of different methods for the serological diagnosis of leptospirosis. *J Trop Med Parasitol* 2000; 23: 59-65.
9. Chapel RJ, Goris M, Palmer MF, and Hartskeerl RA. Impact of proficiency testing on results of the microscopic agglutination test for diagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol* 2004; 42:5484-5488.
10. Cumberland P, Everard COR, Levett PN. Assessment of the efficacy of an IgM-ELISA and Microscopic Agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61: 731-734.
11. WHO, ILS. Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, Malta. 2003.
12. Levett PN, Branch SL, Whittington CU, Edwards CN, Paxton H. Two methods for rapid serological diagnosis of acute leptospirosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8: 349-351.
13. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 296-326.
14. Bajani MD, Ashford DA, Bragg SL, Wood CW, Aye T, Spiegel RA *et al.* Evaluation of four commercially available rapid serologic test for diagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 803-809.
15. Yersin C, Bovet P, Merien F, Wong T, PanoeskyJ, Perolat P. Human leptospirosis in the Seychelles (Indian Ocean): A population-based study. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59: 923-940.
16. Saengjaruk P, Chaicumpa W, Watt G, Bunyaraksyotin G, Wuthiekanun V, Tapchaisri P, *et al.* Diagnosis of human leptospirosis by monoclonal antibody-based antigen detection in urine. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 480-489.
17. Brandao AP, Camargo ED, da Silva ED, Silva MV, and Abrao RV. Macroscopic Agglutination test for rapid diagnosis of human leptospirosis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3138-3142.
18. Bharadwaj R, Bal AM, Joshi SA, Kagal A, Pol SS, Garad G, *et al.* An urban outbreak of leptospirosis in Mumbai, India *Jpn J Infect Dis* 2002; 55: 1940-196.
19. Collins RA. Leptospirosis. *Biomed Sci* 2006; Feb : 116-121.