

## Gambaran Histopatologi Hati dan Ginjal Anjing Terduga Leptospirosis di Kota Denpasar

(*HISTOPATHOLOGICAL CHANGES OF LIVER AND KIDNEY DOG  
SUSPECTED CANINE LEPTOSPIROSIS IN DENPASAR CITY*)

Ida Bagus Oka Winaya,<sup>1</sup> I Ketut Berata,<sup>1</sup> I Made Kardena,<sup>1</sup>  
Anak Agung Ayu Mirah Adi,<sup>1</sup> Aida Louise Tendén Rompis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Patologi Veteriner, <sup>2</sup>Laboratorium Mikrobiologi Veteriner,  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.  
Jln. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia  
Telp (0361) 223791. Email: [Okawinaya@gmail.com](mailto:Okawinaya@gmail.com).

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan patologi pada anjing diduga terinfeksi oleh *Leptospira spp.* Penelitian ini menggunakan rancangan *retrospektif* studi. Lima ekor anjing NDB (*Non-Descriptive Breed*) yang menunjukkan gejala klinis anoreksia, demam, vomitus, poliuri, dispnea dan satu ekor di antaranya disertai ikterik pada sklera digunakan pada penelitian ini. Perubahan patologi anatomi berupa anemik sampai perdarahan petekie ditemukan pada pulmo, kekuningan pada liver disertai distensi pada kantong empedu. Pembengkakan pada limpa dengan bagian tepi tumpul kehitaman. Ginjal terlihat membengkak dan anemik. Perdarahan juga ditemukan pada ileum usus. Organ yang mengalami perubahan dimasukkan kedalam pot yang telah diisi neutral buffer formalin 10%. Jaringan kemudian diproses dan diwarnai dengan hematoxilin-eosin (HE). Pada pemeriksaan mikroskopik ditemukan adanya nekrosis pada septa alveoli disertai infiltrasi makrofag dan netrofil. Pada hati ditemukan bentukan halus seperti spiral pada hepatosit nekrosis. Bentukan halus seperti spiral juga ditemukan pada tubulus ginjal nekrosis. Edematus intertubuler juga dapat ditemukan. Ditemukan juga perdarahan pada limpa disertai infiltrasi sel radang netrofil. Dapat disimpulkan perubahan terkait dengan infeksi *Leptospira spp* dapat ditemukan pada jaringan hati dan ginjal dengan perubahan seperti nekrosis, proliferasi sel kupfer dan edema intertubuler.

Kata-kata kunci: *Leptospira spp*; hati, ginjal; bentukan halus spiral; nekrosis dan netrofil.

### ABSTRACT

This study aims to determine the pathological changes in dog suspected of being infected by *Leptospira spp.* This research used a retrospective study design. A total of 210 canines sample were examined at Faculty of Veterinary Medicine The Udayana of University between January 2008 to January 2010. Of the 210 specimens, five canines with clinical sign anorexia, fever, vomiting, polyurea, dyspnea and only one are noted icteric in the sclera. Macroscopically : the anemic to petechial haemorrhagis was find in pulmo, icterus in liver with gall blader distention, kidney swollen with black color in hillus, spleen rather swollen with black color on end and mild hemorrhagis on intestines. The infected organ is inserted into a pot filled with neutral buffer formalin 10%. Then stained with haematoxyllin-eosin for the microscopic preparation. Microscopic examimation revealed the presence of *spiral bacterial cells* on the necrotic liver and kidneys tissue. Infiltration neutrophils and macrophages was also find in pulmonary and spleen tissue. Besided that intertubuler edematous were also observed under microscopic examination. It can be concluded changes associated with *Leptospira spp* infection can be found in liver and kidney tissue with changes such as necrosis, proliferation of kuffer cells and intertubular edematous.

Key words: *Leptospira spp*; liver; kidney; spleen; necrotic and neutrophils.

## PENDAHULUAN

*Leptospirosis* adalah penyakit pada hewan dan manusia yang disebabkan oleh bakteri motil dari genus *Leptospira* (Medeiros *et al.*, 2010). *Leptospirosis* sebagai suatu penyakit zoonosis yang dapat menyebabkan penyakit dan kematian pada manusia di banyak negara di dunia, namun paling banyak di negara Asia dan Amerika selatan. Bakteri ini sangat motil, tipis, fleksibel, berfilamen, tersusun seperti spiral, dan dilengkapi dengan kait pada kedua ujungnya. Motilitas dicapai dengan gerakan meregang dan melentur berputar pada sumbunya. *Leptospira* merupakan bakteri obligat aerob, dapat diwarnai dengan gram negatif maupun positif (Bharti *et al.*, 2003). Secara tradisional *Leptospira* dibedakan kedalam dua kelompok yaitu *Leptospira* pathogen (*L. interrogans*) dan *Leptospira* saprofitik (*L. biflexa*). Berdasarkan antigenitasnya lebih dari 250 serovarian masuk dalam kelompok *Leptospira* pathogen (Levett, 2001). Ada enam sampai dengan delapan serovarian atau strain yang secara signifikan penting pada anjing dan kucing (Adin and Cowgill, 2000). Serovarian yang paling umum diketahui pada *Leptospirosis* anjing adalah *canicola*, *icterohaemorrhagiae*, *grippothyposa*, *pomona* dan *bratislava*. Tiap serovarian mengalami adaptasi pada satu atau lebih inang mamalia baik sebagai inang definitif ataupun *reservoir*. Pada inang *reservoir* akan terjadi persisten infeksi dengan gejala klinis ringan dan mengeluarkan organisme bersama urin selama berbulan-bulan sampai tahunan. Mamalia juga dapat bertindak sebagai inang insidental, serovarian ini tidak mengalami adaptasi pada tubuh inang dan tidak dapat bertindak sebagai karier kronis. Anjing sebagai inang *reservoir* hanya untuk *L. interrogans canicola* (Golstein, 2007). Beberapa serovarian ditemukan pada hewan domestik dan liar yang tidak menunjukkan gejala klinis sekaligus bertindak sebagai sumber infeksi potensial bagi manusia dan induk semang insidental. Induk semang insidental penderita dapat menunjukkan gejala klinis berat dan juga mengekskresikan organisme ini melalui urinnya (Golstein, 2010). Induk semang insidental meliputi sapi, babi dan kuda.

Kejadian wabah pada daerah endemik umumnya berkaitan dengan musim. Pada musim hujan dengan intensitas tinggi dapat menghanyutkan *Leptospira* kedalam air. Di

Wilayah Asia-Pasifik, *Leptospirosis* dianggap sebagai penyakit berperantara air. Di Indonesia, anjing positif *Leptospirosis* ditemukan di Daerah Istimewa Yogyakarta dengan klinis bervariasi mulai dari subklinis sampai berat. Pemeriksaan serum positif dilakukan dengan metode *Microscopic Agglutination Test* (MAT) (Mulyani GT *et al.*, 2017). Di Negara lain seperti India kejadian *Leptospirosis* pada anjing tahun 2005 dan Philipina tahun 2008 (McCurry, 2009; Victoriano *et al.*, 2009).

Gejala klinis pada anjing penderita *Leptospirosis* sangat variatif dan dipengaruhi oleh umur anjing, virulensi dari serovarian maupun rute dan tingkat paparan. Pada gejala perakut sampai subakut, anjing mati tanpa menunjukkan gejala klinis. Anjing penderita umumnya menunjukkan tanda klinis seperti penurunan nafsu makan, demam (38,5–40°C), mialgia berat, kekakuan pada ekstremitas dan depresi. Bila muntah dapat disertai dengan diareha. Perdarahan ptekie sampai ekimosa dapat ditemukan pada membran mukosa. Ikterus tidak umum dijumpai, walaupun ada lebih sering pada anjing yang terinfeksi akut oleh *Leptospira icterohaemorrhagiae* (Evangelista dan Coburn, 2010).

Diagnosis *Leptospirosis* pada anjing dapat dilakukan dengan mengukur titer antibodi menggunakan metode *Microscopic Agglutination test* (MAT). Uji ini merupakan *gold standar* untuk mendiagnosa infeksi *Leptospira* pada manusia dan hewan (Miller *et al.*, 2008). Metode lainnya adalah pemeriksaan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode ini selain sensitivitas dan spesifitasnya tinggi juga dapat digunakan untuk mendeteksi infeksi akut (Harkin *et al.*, 2003). Pemeriksaan mikroskopik menggunakan pewarnaan *Warthin-Stary Silver* dan imunohistokimia menggunakan antibodi monoklonal juga dapat direkomendasikan (Miller *et al.*, 2008). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran histopatologi anjing terduga *Leptospirosis* di Kota Denpasar.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan rancangan retrospektive studi. Sebanyak 210 ekor sampel anjing berasal dari Kota Madya Denpasar telah diperiksa di laboratorium patologi veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana periode 2008-2010. Lima ekor

diantaranya didapat dari pasar hewan satria Denpasar berjenis kelamin jantan. Empat di antara lima ekor anjing tersebut dalam keadaan mati sedangkan satu ekor yang masih hidup, warna rambut dominan coklat disertai warna putih dibagian abdomen dipakai sebagai hewan kasus. Data menyangkut gejala klinis diambil catatan buku patologi. Pasar Hewan Satria berlokasi di Jln veteran Denpasar merupakan tempat diperdagangkannya hewan kesayangan mulai dari binatang mengerat, bangsa burung, monyet dan anjing. Menurut informasi hewan anjing yang diperdagangkan tersebut dapat berasal dari pulau Bali sendiri atau berasal dari Jawa yang diselundupkan ke Bali.

Sampel anjing yang masih hidup dieutanasi menggunakan garam Inggris jenuh ( $MgSO_4$ ) sebanyak 10 mL yang disuntikkan secara intrakardial (IC). Sampel anjing yang sudah mati maupun yang dieutanasi kemudian di nekropsi, setelah pengamatan *situs viscerum* dilakukan pengambilan organ yang menunjukkan adanya perubahan kemudian dimasukkan ke dalam pot yang sudah mengandung neutral bufer formalin 10%. Seluruh sampel jaringan selanjutnya dipotong kecil-kecil sesuai ukuran dan didehidrasi di dalam larutan alkohol berbagai konsentrasi, mulai dari konsentrasi 70 %, 85%, 96% dan alkohol absolut, kemudian dijernihkan dalam larutan xylol dilanjutkan dengan infiltrasi menggunakan parafin cair dan *embedding* dalam blok parafin. Blok paraffin kemudian dipotong dengan ketebalan 5 mikron untuk diwarnai menggunakan zat warna hematoxilin dan eosin (HE) (Kiernan, 2015).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala klinis kelima sampel anjing yang digunakan pada penelitian ini meliputi anoreksia, demam, vomitus, poliuri, dispnea dan ikterik pada bagian sklera hanya ditemukan pada satu sampel. Pemeriksaan secara patologi anatomi perubahan seperti anemik sampai perdarahan ptekie ditemukan pada pulmo, kekuningan pada liver disertai distensi pada kantung empedu. Pembengkakan pada limpa dengan bagian tepi tumpul kehitaman. Ginjal terlihat anemik dan membengkak. Perdarahan juga terlihat pada bagian ileum usus. Pemeriksaan histopatologi ditemukan nekrosis pada septa alveoli disertai infiltrasi makrofag dan netrofil. Pada jaringan hati ditemukan

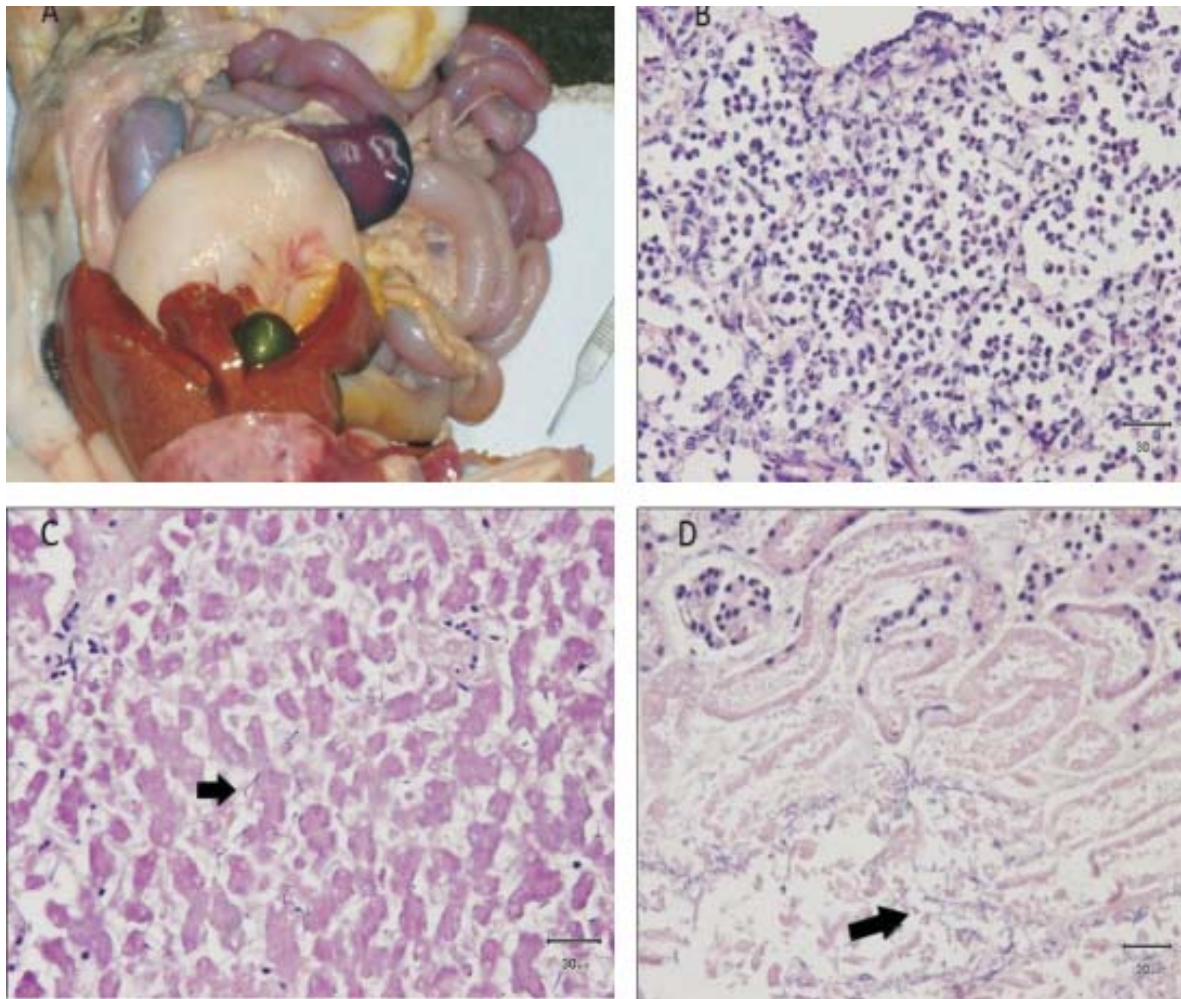
bentukan halus seperti spiral pada hepatosit nekrosis. Bentuk halus seperti spiral juga dapat ditemukan pada tubulus ginjal nekrosis. Edematus intertubuler terlihat juga pada ginjal. Temuan perdarahan dan infiltrasi netrofil juga pada limpa. Data tentang hewan, jenis kelamin, gejala klinis, perubahan patologi anatomi dan histopatologi disajikan pada Tabel 1.

*Leptospirosis* adalah suatu penyakit yang menimbulkan masalah besar di bidang kesehatan masyarakat di seluruh dunia (Sipos *et al.*, 2003). Manifestasi penyakit dapat bervariasi keparahannya mulai dari subklinis sampai bersifat fatal. Ditemukannya gagal ginjal akut disertai dengan kejadian ikterus dapat dicurigai sebagai *Leptospirosis* (Cetin *et al.*, 2004). Pada anjing biasanya *Leptospira* dapat ditemukan dalam sirkulasi darah pada minggu pertama infeksi namun jumlahnya akan menurun bersamaan dengan peningkatan titer antibodi.

Gejala klinis yang terlihat pada kejadian *Leptospirosis* pada anjing meliputi anoreksia, vomitus, poliuri, demam, dan ikterus. Loftis *et al.* (2014) menyatakan klinis demam dan ikterus tidak selalu ditemukan pada anjing yang terinfeksi *Leptospira* secara alami. Gejala klinis ikterus yang ditemukan pada sklera mata penderita disebabkan oleh aktivitas *Leptospira* patogen yang merusak hepatosit. Bersamaan dengan meluasnya nekrosis pada jaringan hati diikuti dengan peningkatan produksi bilirubin akibat dari adanya destruksi eritrosit ekstravaskuler. Maroun *et al.* (2011) juga mengatakan peningkatan kadar enzim alanin aminotransferase (ALT) dan aspartat aminotransferase (AST) sel hati sampai lima kali lipat di dalam peredaran darah disertai tingginya total bilirubin dapat dijadikan indikasi dari keadaan *Leptospirosis*.

Tingkat infeksi *Leptospirosis* pada anjing relatif lebih tinggi ditemukan pada anjing berjenis kelamin jantan jika dibandingkan dengan anjing betina. Hal ini disebabkan oleh aktivitas seksual anjing jantan yang suka mengendus dan menjilat vulva anjing betina, perilaku tersebut memungkinkan anjing jantan sangat berisiko kontak dengan urin yang mengandung *Leptospira*. Temuan ini diperkuat oleh hasil studi retrospektif yang dilaporkan oleh Ward *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa seroprevalensi *Leptospirosis* lebih tinggi ditemukan pada anjing jantan dibandingkan dari anjing betina. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Rad *et al.* (2004) melalui





Gambar 1. Fotomikrograf: (A) ditemukan ikterus pada liver disertai distensi pada kantung empedu, terlihat juga hemorhagis pada pulmo dan intestine, edematus pada limpa dan ginjal juga dapat ditemukan, (B) nekrosis difus ditemukan pada septa alveoli disertai banyak infiltrasi netrofil dan makrofag, (C) bentukan halus spiral ditemukan pada hepatosit nekrosis disertai adanya proliferasi sel kupfer, (D) bentukan halus spiral juga banyak ditemukan pada tubulus nekrosis, desquamasi epitel terlihat pada lumen tubus disertai adanya edema interbuler. Pewarnaan hematoksilin eosin (HE). Bar 30 µm.

pemeriksaan *microscopic agglutination test* (MAT) diketahui reaksi positif relatif lebih tinggi ditemukan pada serum anjing jantan dibandingkan betina.

Infeksi oleh strain *Leptospira* pathogen umumnya terjadi melalui kontak langsung dengan urin hewan terinfeksi atau secara tidak langsung melalui air terkontaminasi. Hampir setiap mamalia dapat bertindak sebagai karier, menyimpan bakteri *Leptospira* pada tubulus proksimalis dan akhirnya dikeluarkan bersama air kencing. Tikus bertindak sebagai karier utama pada kebanyakan kejadian *Leptospirosis* pada manusia, mengekskresikan leptospira  $10^7$  per mL selama berbulan-bulan setelah terinfeksi

(Ko *et al.*, 2009).

Adesi *Leptospira* pada komponen jaringan inang merupakan langkah awal dan sekaligus penting pada setiap infeksi dan pathogenesis. Perlekatan pada sel dan komponen matrik ekstraseluler (ECM) menjadi penting bagi leptospira untuk dapat melakukan penetrasi, diseminasi dan menetap berlama-lama pada jaringan mamalia (Schwarz-Linek *et al.*, 2004). Juga telah diketahui bahwa *L. interrogans* mampu berikatan dengan berbagai *cells line* seperti fibroblast, makrofag, sel endotel dan sel epitel ginjal secara *in vitro* (Breiner *et al.*, 2009).

Perdarahan yang terjadi pada beberapa organ terkait dengan penyakit *Leptospirosis*

Tabel 1. Data tentang hewan, gejala klinis, perubahan patologi anatomi dan histopatologi

Hewan	Jumlah	Jenis kelamin	Gejala klinis	Patologi anatomi(PA)	Histopatologi(HP)
Anjing non-descriptive breed warna bulu coklat umur kurang dari 1 tahun	5 ekor	jantan	Anoreksia, demam, vomitus, poliuri, dispnoea dan ikterus pada sclera (hanya pada satu dari lima ekor)	Ditemukan perubahan anemik sampai perdarahan pada pulmo, kekuningan pada liver disertai distensi pada kantung empedu. pembengkakan pada limpa dengan tepi tumpul kehitaman. Ginjal terlihat bengkak dan anemik serta perdarahan pada ileum.	Terlihat nekrosis pada septa alveoli disertai infiltrasi makrofag dan netrofil. Pada hati ditemukan bentukan halus seperti spiral pada hepatosit nekrosis. Bentukan yang sama juga ditemukan pada tubulus ginjal nekrosis. Edematous intertubuler juga ditemukan. Selain itu perdarahan disertai infiltrasi netrofil pada limpa juga ditemukan.

berhubungan dengan adanya kerusakan endotel pada pembuluh darah. Hal ini dapat dibuktikan melalui pemeriksaan plasma darah dan ditemukan peningkatan kadar throm-bomodulin.. Thrombomodulin merupakan marker terjadinya kerusakan pada endotel pembuluh darah (Yang *et al.*, 2006). Keller *et al.* (2003) juga mengatakan bahwa endotel yang terpapar oleh suatu pathogen akan kehilangan integritasnya sebagai antikoagulan.

Ditemukannya infiltrasi sel radang mononuklear dan polimorfonuklear pada daerah nekrosis pada organ hati dan ginjal merupakan respon peradangan yang selalu ditemukan pada pemeriksaan histopatologis hewan ataupun manusia penderita *Leptospirosis* (Levett, 2001).

Kegagalan fungsi ginjal berhubungan dengan protein *outer membrane Leptospira* seperti LipL 32 yang mampu berikatan dengan reseptor *Toll-like* pada epitel tubulus proksimal. Ikatan ini kemudian dapat mengaktifkan *nuclear factor NF-kβ* untuk merangsang produksi *monocyte chemotactic protein* (MCP). Senyawa MCP juga berhubungan erat dengan peningkatan kadar *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), dan *Tumor Necrotic Factor* (TNF  $\alpha$ ). Pelepasan protein proinflamsi ini

menyebabkan timbulnya peradangan pada tubulus ginjal. Selain peradangan, edema, dan nekrosis juga dapat ditemukan (Cerqueira *et al.*, 2008). Peneliti sebelumnya juga menemukan beberapa protein *outer membrane* (OMPs) dari spesies *Leptospira* patogen teridentifikasi pada tubulus proksimal dan jaringan interstitialis spesies hewan anjing yang terinfeksi (Shiram *et al.*,2017).

Ditemukannya bentukan halus seperti spiral pada hepatosit nekrosis serupa dengan yang dilaporkan oleh Jamshidi *et al.*, (2008). Hanya pada penelitiannya jaringan hati diwarnai menggunakan pewarna *Levadtis's*. Tingkat keparahan jaringan hati dan ginjal yang diinfeksi bakteri *Leptospira spp* disajikan pada Gambar 1.

### SIMPULAN

Berdasarkan temuan gejala klinis, perubahan patologi anatomi dan perubahan histopatologi berupa bentukan halus seperti spiral pada hepatosit dan ginjal nekrosis disertai edema intertubuler disertai adanya bentukan spiral pada tubulus nekrosis maka dapat

disimpulkan anjing NDB ini dicurigai terinfeksi oleh *Leptospira spp.*

### SARAN

Adanya kecurigaan di Kota Denpasar telah ditemukan anjing diduga terinfeksi oleh bakteri *Leptospira spp* maka perlu dilakukan tindakan vaksinasi pada anak anjing agar terhindar dari *Leptospirosis*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada mahasiswa koasistensi pendidikan profesi dokter hewan (PPDH) yang bertugas di Laboratorium Koasistensi Diagnostik periode tahun 2008 – 2010, atas bantuannya saat melakukan bedah bangkai terhadap anjing yang secara klinis terinfeksi oleh *Leptospira spp.*

### DAFTAR PUSTAKA

- Adin CA and Cowgill LD. 2000. Treatment and Outcome of Dogs with *Leptospirosis*. *J Am Vet Med Assoc* 216 : 371-375.
- Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN. 2003. *Leptospirosis* : a zoonotic diseases of global importance. *Lancet Infectious Disease* 3(12) : 757-771.
- Breiner D, Fahey M, Salvador R, Novakova J, Coburn J. 2009. *Leptospira interrogans* Binds to Human Cells Surface Receptor Including Proteoglycans. *Infect Immun* 7 (12): 5528-5536.
- Cerqueira TB, Athanzio DA, Spichler AS, Seguro AC. 2008. Renal Involvement in *Leptospirosis*- New Insight into Pathophysiology and Treatment. *Braz J Infect Dis* 12 : 248 – 52.
- Cetin BD, Hammankaya O, Hasman H, Gunduz A, Oktar M, Seber E. 2004. Acute Renal Failure : a common manifestation of leptospirosis. *Ren Fail* 26: 655-661.
- Evangelista KV, and Coburn J. *Leptospira* as a emerging pathogen: a Reviews, of its Biology, Pathogenesis and Host Immun Respon. *Future Microbiol* 5(9) : 1413-1425.
- Golstein RE. 2007. *Leptospirosis*-Epidemiologi, Pathogenesis and Zoonosis. *Insight Vet Med* 5(2): 2.
- Golstein RE. 2010. Canine *Leptospirosis*. *Vet clin Small Anim* 40: 1091-1101.
- Harkin KR, Roshto YM, Sullivan JT, Parvis TJ, Chengappa MM. 2003. Comparison of Polymerase Chain Reaction Assay Bacteriologic Culture and Serologic Testing in Assessment of Prevalence of Urinary Shedding of *Leptospira* in dog. *Javma* 222 (9) : 1230 – 1233.
- Jamshidi SH, Vandeuseffi GM, Desfoulian O, Ghaffari SH. 2008. Isolation of *Leptospira canicola* From a Dog in Iran: First Report. *Iranian Journal of Veterinary Research* 9(3): 291-294.
- Keller TT, Mairuhu AT, DeKruiff MD. 2003. Infectious and Endothelial Cells. *Cardiovascular Research* 60: 40-48.
- Kiernan JA. 2015. *Histological and Histochemical Method: Theory and Practice*. 3 Ed. Oxford England. Pergamon Press. Pp 90-103.
- Ko A, Goarant C, Piccordeau M. 2009. *Leptospira* the Down of Molecular Genetic for an Emerging Zoonotic Pathogen. *Nat Rev Microbiol* 7: 736-746.
- Levett PN. 2001. *Leptospirosis*. *Clinical Microbiol Rev* 14 : 296-326.
- Loftis A, Castillo-Alcala F, Bogdanovic L, Verma A. 2014. Fatal Canine *Leptospirosis* on St Kitts. *Vet Sci* (1): 150-158.
- Maroun F, Khusawaka E, El-Chorabaty E, Mobarakai N, Sayegh S. 2011. Fulminant *Leptospirosis* (*Weils Disease*) in an Urban Setting as an Overlooked Cause of Multiorgan Failure: A Case report. *J Med Case Reports* : 5-7.
- McCurry J. 2009. Philippines Struggles to Recovery from Typhoons. *Lancet* 347 : 1489
- Medeiros FR, Spichler A, Athanzio DA. 2010. *Leptospirosis*-Associated Disturbances of Blood Vessel, Lumpad Hemostasis. *Acta Tropica* 115:155.
- Miller MD, Annis KM, Lappin MR, Gill M, Lunn KF. 2008. Sensitivity and Specificity of the Microscopic Agglutination Test for the Diagnosis of *Leptospirosis* in Dog. *J Vet Intern Med* 22: 787-788.

- Muesoongnoen J, Phulsuksombali D, Parichantikanan P, Sangjan N, Pilakasiri C, Sripaoraya K, Roongruangchai J, Koedpuech K, Pilakasiri K. 2006. A Histopathological Study of Hearts and Spleen of Hamster (*Mesocricetus auratus*) Infected with *Leptospira interrogans* serovar Pyrogen. *Southeast Asia J Trop Med Public Health* 37(4): 720-29.
- Mulyani GT, Hartati S, Santoso Y, Kurnia, Pramono AB, Wirapratwi DK. 2017. Kejadian Leptospirosis pada Anjing di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Veteriner* 8(3):403-408.
- Rad MA, A. Zeinali YJ, Vand, Tabatabayi AH, Bokaie S. 2004. Seroprevalence and Bacteriological Study of Canine *Leptospirosis* in Tehran and Its Suburban Areas. *Iranian Journal of Veterinary Research University of Shiraz* 5(2): 1838 - 1845.
- Schwarz-Linek U, Hook M, Pott JR. 2004. The Molecular Basis of Fibronectin-Mediated Bacterial Adherence to Host Cells. *Mol Microbiol* 52(3):631-641.
- Sipos A, Toma F, Judit F, Damila M, Sipos R. 2003. Leptospirosis-Epidemic, Clinical and Diagnostic Aspect. *Bacteriol, Viruzol, Parazitol, Epidemiol* 48: 165-168.
- Shiram VK, Joseph S, Ramachandran A, Mangattumurruppel M. 2017. Development of Leptospiral Outer Membrane Protein-based Dot ELISA Assay and Immunoprofilling for Diagnosis of Acute Canine Leptospirosis. *Turk VetAnim Sci* 41: 627-634
- Tangkanakul W. 2000. Risk Factor Associated with Leptospirosis in Northeastern Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 63(3): 204-208.
- Victoriano A, Smythe L, Gloriani-Barzaga N. 2009. Leptospirosis in The Asia-Pacific Region. *BMC Infect Dis* 9: 147.
- Ward MP, Guptill LF, Prah A, Wu CC. 2004. Serovar-specific Prevalence and Risk Factor for *Leptospirosis* among Dogs: 90 cases (1997 – 2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224: 1958-1963.
- Yang HL, Jiang XL, Zhang XY. 2006. Thrombocytopenia in The Experimental Leptospirosis of Guinea Pig is not related to Disseminated Intravascular Coagulation. *BMC Infectious Disease* 6:9.