

Isolasi Virus Penyebab Canine Parvovirus dan Perubahan Patologik Infeksi pada Anjing

INDRAWATI SENDOW dan HELMI HAMID

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114
Email: i.sendow@balitvet.org

(Diterima dewan redaksi 17 Desember 2003)

ABSTRACT

SENDOW, I dan H. HAMID. 2004. The isolation of canine parvovirus and pathological changes of infected dogs. *JITV* 9(1): 46-54.

The aims of this study are to isolate canine parvovirus (CPV) from the field case and to evaluate its histological aspects in CPV infected dogs. Samples were collected from intestine, intestine contained and mucose, as well as dogs feces from diarrhoea and blood diarrhoea. The suspension of those specimen was inoculated into *Feline Kidney* cells and observed for *cythopathic effect* (CPE). The presence of CPE indicated that there was viral isolate and continued to further identification using Haemagglutination (HA) test with pig red blood cells. Samples with positif in HA test were further identification using Haemagglutination Inhibition (HI) test against reference CPV antisera. Isolation result showed that from 81 samples processed, 10 samples indicated CPE in cell cultures, and had agglutinated in pig red blood cells and neutralised reference CPV antisera as the same titer of reference CPV antisera. Nine isolates were obtained from feces and 1 isolate was obtained from Mucose intestine from bloody diarrhoea dogs. Those isolates were also obtained from 1 to 2 days post blood diarrhea clinical signs. Two from 10 cadavers examined showed histological changes to CPV infection. Isolate of CPV, originally from feces, was also obtained from one of the two cadavers. Based on the results it was concluded that more CPV viral isolates can be obtained from bloody diarrhea feces.

Key words: Canine parvovirus, inhibition, isolation, pathology, identification

ABSTRAK

SENDOW, I dan H. HAMID. 2004. Isolasi virus penyebab dan perubahan patologik infeksi canine parvovirus pada anjing. *JITV* 9(1): 46-54.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat virus *Canine Parvovirus*(CPV), dari kasus di lapang dengan cara mengisolasi CPV dari organ dan feces anjing yang mengalami diare dan diare berdarah, serta mempelajari gambaran histologi organ yang terinfeksi CPV pada anjing. Suspensi organ usus, isi usus, kerokan mukosa usus dan feces diinokulasikan pada biakan jaringan *Feline Kidney* dan diamati *cythopathic effect* (CPE), yang menunjukkan diperoleh isolat virus. Virus yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi dengan menggunakan uji Hemaglutinasi (HA) dengan darah babi. Sampel yang mempunyai daya aglutinasi terhadap darah babi tersebut dilanjutkan dengan uji Hemaglutinasi inhibisi (HI) dengan menggunakan referen antisera CPV. Hasil isolasi virus menunjukkan bahwa dari 81 sampel yang diproses untuk isolasi virus, 10 sampel menunjukkan CPE pada biakan jaringan *Feline Kidney*, dan memberikan daya aglutinasi dengan sel darah merah babi dengan uji Hemaglutinasi (HA) serta memberikan reaksi netralisasi dengan serum positif CPV standard dengan titer HI mencapai 256, sesuai dengan titer serum standar. Sembilan isolat berasal dari feces dan 1 isolat berasal dari kerokan mukosa usus dari anjing yang secara klinis mengalami diare berdarah. Isolat tersebut juga diperoleh dari sampel yang diambil 1 hingga 2 hari pasca gejala klinis diare berdarah. Dua dari 10 kadaver anjing yang diperiksa, mengalami kelainan histopatologis yang mengarah pada infeksi virus CPV. Satu diantaranya berhasil diisolasi CPV dari feces anjing tersebut. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat virus CPV lebih banyak diperoleh dari feces yang disertai darah.

Kata kunci: Canine parvovirus, isolasi, patologik, identifikasi

PENDAHULUAN

Anjing merupakan salah satu hewan kesayangan, yang dipelihara untuk berbagai tujuan, diantaranya sebagai penjaga rumah, teman atau ajang hiburan untuk menghilangkan stres maupun sebagai simbol status. Sebagian konsekuensinya, tidak sedikit orang mengeluarkan uang sangat banyak hanya untuk membeli seekor anjing impor yang secara fisik maupun

kepribadian telah direkomendasikan baik secara nasional maupun internasional. Namun demikian ada beberapa jenis penyakit infeksius pada anjing yang sering ditemukan dan mengancam kehidupannya, diantaranya adalah, Distemper, Kennel cough dan Canine parvovirus (CPV). Pada tulisan ini kasus Canine parvovirus (CPV) akan dibahas lebih lanjut.

Infeksi CPV, atau yang dikenal dengan penyakit Muntaber anjing, ditandai dengan gejala muntah dan

mencoret berdarah pada anjing, yang berakhir dengan kematian dalam waktu kurang dari 3 hari. Secara makroskopis, anjing tersebut mengalami dehidrasi berat, usus mengalami dilatasi dan berisi cairan berwarna merah hingga kehitaman. Secara mikroskopik, perubahan yang paling menonjol adalah terlihatnya degenerasi hingga nekrosis dan hiperplasia dari epitelia kriptal pada usus bagian duodenum atau yeyenum. Pada kriptal yang mengalami kerusakan ini, banyak ditemukan sel-sel debris. Atropi organ sistem pertahanan tubuh juga sering terlihat pada anjing-anjing yang terinfeksi CPV. Badan inklusi intranukleus yang bersifat basofilik pada epitel kriptal dapat ditemukan tergantung dari lamanya hewan tersebut telah terinfeksi (MACARNEY *et al.*, 1984; NELSON *et al.*, 1979).

Penyakit CPV sangat merugikan pemilik dan breeder karena mortalitasnya yang tinggi, bahkan dapat mencapai 100% pada anak anjing. Kasus CPV lebih banyak menyerang anjing muda dan ras, terutama anjing impor dibandingkan dengan anjing lokal. Mengingat harga anjing ras impor mencapai ratusan juta rupiah, maka penanganan kasus CPV perlu mendapat perhatian yang lebih serius, baik dari kalangan praktisi kedokteran hewan maupun para peneliti di bidang veteriner.

Bila dibandingkan dengan kasus CPV pada tahun 1980-an, kasus CPV akhir-akhir ini dapat ditekan dengan dilaksanakannya program vaksinasi secara teratur. Meskipun vaksinasi terhadap CPV telah dilakukan, namun kegagalan vaksinasi masih sering dijumpai. Di lapangan, kegagalan vaksinasi dapat mencapai 20% (Cucu Kartini, pers. Com.). Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya karena tidak homolognya antara antigen vaksin yang beredar di Indonesia dan virus yang menginfeksi anjing tersebut atau antibodi yang dihasilkan tidak cukup untuk melindungi anjing dari serangan infeksi virus CPV.

Penelitian MILDBRAND *et al.* (1984) menunjukkan bahwa kandungan virus CPV pada feses dalam jumlah yang besar, cukup untuk menularkan penyakit CPV ke anjing lainnya. Dengan demikian feses merupakan salah satu bahan spesimen yang paling baik sebagai sumber penularan dan juga dapat digunakan untuk diagnosis CPV.

Penelitian CPV pada anjing di Indonesia belum banyak dilaporkan, namun di lapangan menunjukkan bahwa kasus CPV masih banyak ditemukan terutama pada anjing muda yang dapat menyebabkan kematian. Hingga saat ini isolasi virus Parvo belum pernah dilaporkan.

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari kasus CPV serta mendapatkan isolat virus CPV penyebab diare dan kematian pada anjing.

MATERI DAN METODE

Sampel

Sampel feses berasal dari anjing yang sakit dengan gejala klinis diare dan diare berdarah digunakan dalam penelitian ini. Sampel tersebut berasal dari Klinik Dokter Hewan Praktek di Bogor dan Sukabumi, Rumah Sakit Hewan Jakarta serta Rumah Sakit Hewan Institut Pertanian Bogor, Darmaga. Satu sampel berupa kerokan mukosa usus anjing yang mengalami klinis kearah CPV diperoleh dari Bali. Selain sampel diambil juga data mengenai umur, spesies, breed, jenis kelamin, lokasi, riwayat vaksinasi dan data epidemiologi lainnya. Apabila memungkinkan serum dari anjing yang sakit juga diambil untuk pemeriksaan serologis. Pada hewan yang mati, isi usus, vesika urinaria, organ timus dan limpa, yang mengalami lesi juga diambil untuk pemeriksaan virologis dan histo-patologis. Sampel tersebut ditempatkan dalam media transpor atau dalam bufer formalin 10%.

Uji serologi

Serum yang berhasil diperoleh dari anjing yang fesesnya diambil, diuji dengan menggunakan uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) terhadap virus CPV, untuk mengetahui ada tidaknya antibodi pada serum yang diperoleh. Referens virus dan antisera untuk uji tersebut diperoleh dari James Cook University, Australia. Uji serologi yang digunakan pada penelitian ini adalah uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI), berdasarkan metode SMITH (1981), dengan modifikasi, seperti telah diuraikan pada SENDOW dan SYAFRIATI (2003).

Isolasi virus

Feses, isi usus dan organ yang mengalami lesi digunakan untuk keperluan isolasi virus. Isolasi dilakukan dengan membuat 20% suspensi organ dalam PBS steril dan kemudian di cair-bekukan 3 kali, lalu disentrifus dengan kecepatan 1000 x g selama 10 menit. Supernatan difilter dengan menggunakan milipore filter ukuran 450 nm, sebelum diinokulasikan pada biakan jaringan *Feline Kidney* (FK) yang telah membentuk 50% jaringan selapis, dalam media pemeliharaan yang terdiri dari DMEM (Dulbecco Minimum Earle's Media) berantibiotik dan 1% Foetal Bovine Serum. Biakan jaringan tersebut diinkubasikan pada suhu 37°C selama 6 hari dan diamati setiap hari ada tidaknya *Cytopathic effect* (CPE). Apabila CPE tampak, maka suspensi tersebut mengandung isolat virus. Apabila CPE tidak tampak, pasase buta dilakukan sebanyak 3 kali sebelum

inokulum tersebut dinyatakan negatif mengandung isolat virus. Inokulum yang akan dipasase lebih lanjut, di beku-cairkan sebanyak 3 kali, kemudian disentrifus dengan kecepatan 1000 x g. Supernatan yang diperoleh digunakan sebagai inokulum untuk pasase selanjutnya.

Propagasi isolat virus pada biakan jaringan *Feline Kidney* (FK)

Isolat yang diperoleh diperbanyak dalam biakan jaringan FK yang ditumbuhkan pada *Tissue culture flask*. Sel FK yang digunakan memiliki tingkat pasase 134. Apabila biakan jaringan FK telah membentuk 40-50% jaringan selapis, media dibuang secara aseptis dan ditambah 300 µl isolat yang telah mengalami beku-cair sebanyak 3 kali dan dibiarkan dalam inkubator selama 1 jam sebelum ditambahkan media DMEM berantibiotik dan 1% Foetal Bovine Serum (FBS). Sel tersebut diamati selama 5 hari. Apabila terlihat CPE, maka sel dan cairan dipanen untuk diidentifikasi lebih lanjut.

Identifikasi isolat virus

Isolat yang telah diperbanyak dalam biakan jaringan FK dicair-bekukan sebanyak 3 kali, lalu disentrifus dengan kecepatan 1000 x g selama 15 menit. Supernatan digunakan dalam uji HA untuk mengetahui ada tidaknya daya aglutinasi virus terhadap Sel Darah Merah (SDM) babi. Aglutinasi menunjukkan bahwa isolat virus tersebut mempunyai daya aglutinasi, dan dilanjutkan dengan identifikasi isolat dengan menggunakan uji HI terhadap referen antisera CPV.

Patologi

Anjing yang mati dengan anamnesis diare, diperiksa secara patologik. Organ yang mengalami kerusakan diambil dan difiksasi dalam Buffer Neutral Formalin (BNF) 10%. Kemudian potongan organ tersebut diproses lebih lanjut dan dipotong setebal 5 µm dan diwarnai dengan pewarna Hematoksin dan Eosin (HE) berdasarkan metode DRURY and WALLINGTON (1980). Pemeriksaan histopatologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 81 sampel yang terdiri dari 56 sampel feses, 6 sampel isi usus, 10 sampel mukosa usus, dan 9 sampel usus telah diproses untuk tujuan isolasi virus CPV dalam biakan jaringan FK seperti tertuang pada Tabel 1.

Biakan jaringan FK digunakan pada penelitian ini karena biakan jaringan FK merupakan biakan jaringan yang sensitif untuk menjangkit isolat yang berasal dari lapang, dan virus Parvo dapat menimbulkan CPE pada

biakan jaringan FK, sehingga pengamatan yang dilakukan dapat lebih mudah (SMITH, pers. Comm. James Cook University).

Tabel 1. Jenis sampel yang diproses untuk isolasi serta perolehan isolat virus CPV

Jenis sampel	Jumlah sampel	Isolat
Isi Usus	6	0
Usus	9	0
Mukosa Usus	10	1
Feses	56	9
Total	81	10

Tabel 1 menunjukkan bahwa tidak satu isolat pun berhasil diisolasi dari sampel usus dan isi usus, tetapi hanya 1 isolat dari kerokan mukosa usus dan 9 isolat dari feses. Dari seluruh usus, isi usus dan kerokan usus yang diperoleh dari kadaver anjing yang mati, tidak diperoleh isolat. Hanya 1 isolat berhasil diperoleh dari sampel kerokan mukosa usus asal Bali.

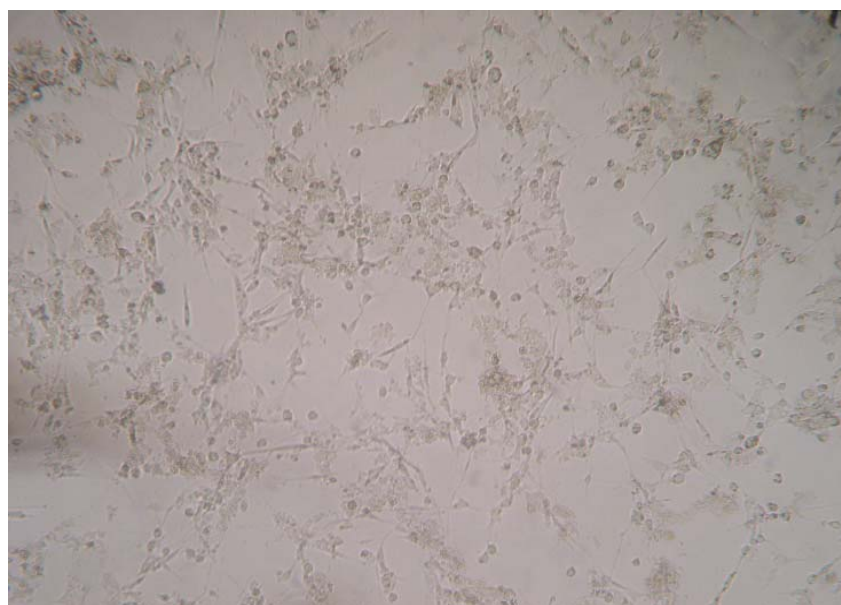
Pada penelitian ini, sebanyak 48 dari 56 sampel feses untuk isolasi virus pada biakan jaringan FK, dilakukan dengan 2 perlakuan yaitu tanpa proses cair-beku dan dengan proses cair-beku sebelum diinokulasikan pada biakan jaringan FK, untuk mengetahui dampak perolehan isolat. Hasil isolasi virus dari sampel yang tidak dicair-bekukan, menunjukkan bahwa 4 sampel menghasilkan CPE pada pasase ke-3 dengan titer 2-3 log 2, namun pada pasase selanjutnya tidak menghasilkan CPE. Sedangkan sampel yang mengalami proses beku-cair sebelum diinokulasikan dan pasase lanjutan pada biakan jaringan FK, menghasilkan CPE mulai pasase ke-2 dan pada pasase selanjutnya juga menghasilkan CPE. Hal ini terlihat pada 9 sampel feses yang menghasilkan isolat virus. Titer yang diperoleh dari perlakuan beku-cair ini mencapai lebih dari 16 log 2, seperti tertuang pada Tabel 2. Dari data tersebut terlihat bahwa perlakuan cair-beku terhadap inokulum yang akan dipasase ikut berpengaruh pada keberhasilan untuk mendapatkan isolat CPV asal feses yang diinokulasikan pada biakan jaringan FK. Untuk itu, perlakuan cair-beku pada inokulum sebelum pasase selanjutnya mutlak dilakukan seperti pada penelitian ini.

Sebagian isolat yang diperoleh, berasal dari 2 hari pasca vaksinasi. Apakah isolat yang diperoleh tersebut berasal dari modified live vaksin yang diberikan, kiranya perlu penelitian lebih lanjut dengan melakukan pendekatan biologi molekuler. Namun menurut TRUYEN (2002) masa inkubasi infeksi CPV antara 3 hingga 7 hari, sehingga kemungkinan infeksi CPV telah terjadi sebelum divaksinasi.

Tabel 2. Titer isolat virus dengan uji Hemaglutinasi pada beberapa pasase pada biakan jaringan FK dan titer HI dengan referen antisera terhadap CPV

No. isolat	Titer HA (log 2) pada tingkat pasase(P)					Titer HI (log 2)
	P1	P2	P3	P4	P5	HI
RIVS 57	9	11	>12	>12	>15	8
RIVS 58	9	11	12	>12	15	8
RIVS 59	-	-	2	12	12	8
RIVS 70	-	-	9	16	NT	7
RIVS 72	-	-	12	15	>15	7
RIVS 74	-	-	15	15	15	7
RIVS 75	-	-	10	15	NT	7
RIVS 76	-	10	13	>116	>16	8
RIVS 77	-	-	12	14	>15	8
RIVS 78	-	-	3	10	10	8

* P = pasase ke



Gambar 1. Cytopathic effect virus canine parvovirus pada biakan jaringan feline kidney

Pada penelitian ini, pemberian serum Foetal Bovine Serum (FBS) pada biakan jaringan untuk isolasi virus diberikan seminimal mungkin, karena menurut RIMMELZWAAN (1990) penambahan FBS pada inokulum dapat menghambat perkembangbiakan virus CPV pada biakan jaringan.

Tabel 2 juga menunjukkan bahwa kebanyakan isolat virus, diperoleh pada pasase ke 3 pada biakan jaringan FK. Satu isolat (RIVS 76) diperoleh pada pasase ke 2, dan 2 isolat (RIVS 57 dan 58) memperlihatkan CPE sejak pasase pertama dan umumnya CPE muncul pada hari ke 5 (Gambar 1).

Identifikasi awal dengan uji HA terhadap 10 isolat yang menunjukkan CPE pada biakan jaringan FK, memberikan daya aglutinasi terhadap SDM babi, dengan titer 2 log 2 hingga lebih dari 16 log 2. Ditinjau dari pengamatan gejala klinis dan waktu pengambilan feses, sembilan isolat tersebut berhasil diperoleh dari feses anjing yang mengalami diare berdarah dan feses diambil pada hari ke-1 dan 2 (Tabel 3) setelah menunjukkan gejala klinis diare berdarah, yang didiagnosis sebagai infeksi CPV. Satu isolat berasal dari kerokan mukosa usus yang berasal dari Bali.

Tabel 3. Data anjing yang berhasil diisolasi virus CPV

Kode anjing	Umur	Jenis kelamin	Breed	Riwayat vaksinasi	Gejala klinis	Mati/sembuh	Asal	Pengambilan sample (Hari pasca gejala klinis)	Titer serum (HI)
RIVS 70	2 bulan	Jantan	Doberman	belum	Mencret berdarah, warna kehitaman, bau amis	Mati hari ke-3	Bogor	Feses hari ke-1	Tidak ada serum
RIVS 72	2 bulan	Jantan	Doberman	sudah	2 hari setelah vaksinasi CPV, anjing sakit, tidak mau makan, mencret berdarah, lemas	Mati hari ke-2	Jakarta	Fese hari ke-1	Tidak ada serum
RIVS 74	2 bulan	Jantan	Doberman	sudah	2 hari setelah vaksinasi CPV, anjing sakit, tidak mau makan, mencret berdarah, lemas	Mati hari ke-2	Jakarta	Feses hari ke-1	Tidak ada serum
RIVS 75	2 bulan	Jantan	Doberman	sudah	2 hari setelah vaksinasi CPV, anjing sakit, tidak mau makan, mencret berdarah, lemas	Mati hari ke-2	Jakarta	Feses hari ke-1	Tidak ada serum
RIVS 76	2 bulan	Jantan	Doberman	sudah	2 hari setelah vaksinasi CPV, anjing sakit, tidak mau makan, mencret darah, lemas	Mati hari ke-2	Jakarta	Feses hari ke-1	Tidak ada serum
RIVS 77	3 bulan	Jantan	Lokal	belum	Mencret berdarah dengan bau amis	Mati hari ke-2	Bogor	Feses hari ke-1	Tidak ada serum
RIVS 58	2,5 bulan	Betina	Herder	sudah	2 hari setelah vaksinasi CPV, anjing sakit, mencret berdarah, warna coklat kehitaman	Sembuh	Bogor	Feses hari ke-2 dan 3	Serum titer 10 log 2
RIVS 57	TA*	TA	TA	belum	Mencret berdarah	Mati	Bali	Kerokan mukosa usus	Tidak ada serum
RIVS 59	1 tahun 9 bulan	Jantan	Boxer	sudah	1 tahun yang lalu telah divaksinasi. Gejala 5 hari tidak mau makan, agak mencret, lemas, dan 2 hari sebelum mati mencret berdarah	Mati	Sukabumi	Feses diambil hari ke 2	Tidak ada serum

* TA : Tidak tercatat

Uji lanjutan untuk mengidentifikasi apakah ke 10 isolat tersebut merupakan isolat CPV, maka dilakukan uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) terhadap serum standar positif CPV. Hasil menunjukkan bahwa sepuluh isolat tersebut menetralkan serum standar CPV dengan titer mulai dari 128 hingga 256, sesuai dengan titer standar referen serum CPV yaitu $8 \log_2$ atau 256 (Tabel 3). Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa isolat tersebut merupakan isolat Parvovirus.

Selain feses, delapan serum anjing yang mengalami diare berdarah yang fesesnya juga diperoleh untuk isolasi virus, telah diambil dan diuji dengan uji HI. Hasil menunjukkan bahwa kedelapan serum anjing tersebut mempunyai titer antibody yang tinggi yaitu berkisar antara $11 \log_2$ hingga lebih dari $12 \log_2$. Dari data tersebut dapat diasumsikan bahwa anjing tersebut telah terinfeksi virus CPV, bahkan 4 diantaranya mati, dan 4 lainnya sembuh. Adapun waktu pengambilan sampel feses dari kedelapan sampel tersebut adalah mulai 4 hingga 6 hari pasca klinis diare berdarah. Dari ke delapan feses yang diproses tersebut, tidak satu isolatpun berhasil diisolasi. Hal ini diduga disebabkan oleh waktu pengambilan sampel yang tidak tepat.

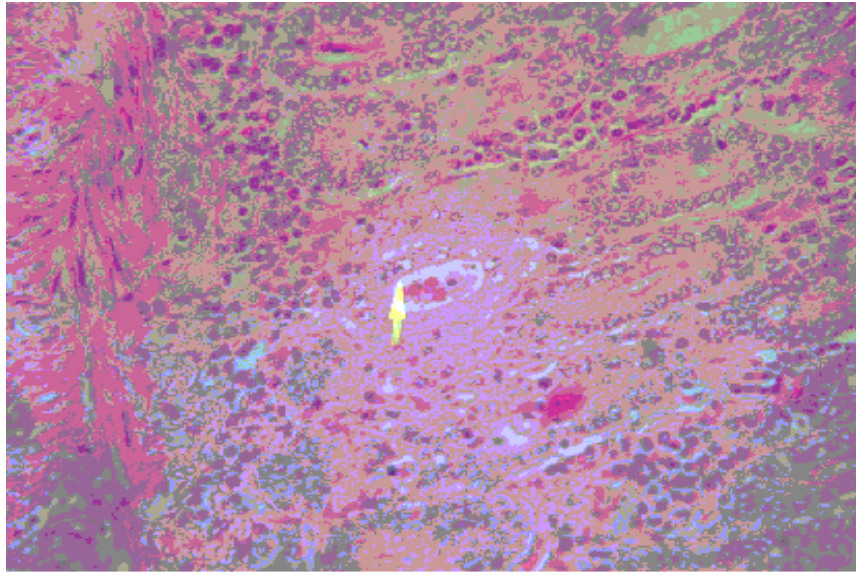
Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat virus hanya berhasil diisolasi dari feses yang mengalami diare berdarah yang disebabkan oleh infeksi CPV dan pengambilan sampel dilakukan pada 1–2 hari pasca klinis. Isolat virus tidak berhasil diperoleh dari feses pada pengambilan sampel hari ke-3 hingga ke-6 pasca klinis. Meskipun demikian tidak semua feses yang mengalami diare berdarah, isolat virus berhasil diperoleh. Makin cepat sampel feses diperoleh makin besar kemungkinan diperolehnya isolat virus. Hal ini sesuai penelitian MILDBRAND *et al.* (1984), yang menyatakan bahwa feses merupakan sampel yang paling baik dan mudah didapat, untuk menjangkit isolat virus CPV. Hal ini juga sejalan dengan penelitian MEUNIER *et al.* (1985b) yang menyatakan bahwa virus CPV dapat diekskresikan melalui feses 3 hingga 10 hari pasca infeksi, sedangkan gejala klinis diare berdarah baru muncul beberapa hari pasca infeksi. Infeksi CPV pada epitel usus pertama kali terlihat 4 hari setelah inokulasi oral dan anjing mengalami viraemia sebelum infeksi usus terjadi. Sekresi virus pada feses dapat ditemukan 4 hari setelah inokulasi dan lesi pada usus makin parah antara hari ke 4 hingga ke 6 setelah inokulasi (MEUNIER *et al.*, 1985b).

Sebanyak 10 kadaver anjing yang berasal dari Klinik Hewan dan Rumah Sakit Hewan IPB telah diperiksa dengan anamnesis lemas, tidak nafsu makan, diare, kadang-kadang disertai darah dan mati. Hasil Histopatologi menunjukkan bahwa sebagian besar lesi tidak menunjukkan kelainan yang *patognomonik* infeksi virus CPV, tetapi 2 kadaver menunjukkan kelainan yang cenderung mengarah ke infeksi virus seperti CPV. Hal ini terlihat pada spesimen No. 087 dan 0926-D.

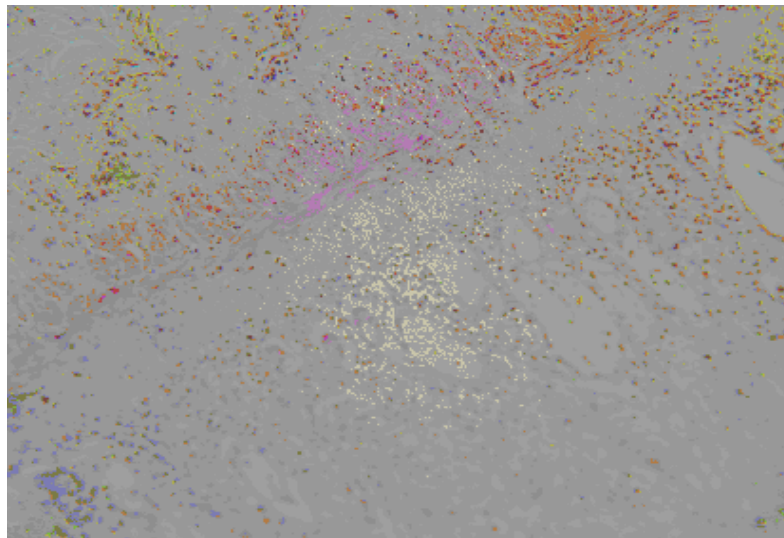
Pemeriksaan makroskopis dan histopatologis dilakukan pada kadaver anjing dengan No. spesimen 087, yang bernama RIVS 59, jenis Boxer, umur 1 tahun 9 bulan, jantan, pernah divaksinasi CPV 1,5 tahun yang lalu, menunjukkan gejala klinis tidak mau makan selama 4-5 hari, muntah berdarah berwarna hitam dan bau amis 2 hari sebelum mati, muntah, lemas, dehidrasi berat dan mati pada hari ke 5. Secara makroskopis, pada usus terjadi perdarahan berat, pada lumen usus berwarna merah kehitaman dengan bau amis. Tidak terlihat infestasi cacing. Pada paru-paru terdapat lobular pneumonia dan oedema, sementara organ lainnya seperti jantung, hati, ginjal, vesica urinaria dan limpa tidak mengalami perubahan spesifik. Secara histopatologis, kelainan yang terjadi pada usus, duodenum, antara lain hampir seluruh ujung villi mengalami ulserasi dan atrofi. Pada permukaan mukosa dilapisi oleh eksudat mukopurulen dan beberapa infiltrasi sel-sel neutropil. Villi epitel mengalami vakuolisasi. Pada daerah lamina propria banyak ditemukan infiltrasi sel limfosit, neutropil dan sel plasma. Beberapa kripa mengalami dilatasi dan sebagian sel basal mengalami nekrosis dan karyoreksis, sedangkan pada daerah lainnya sel-sel basal mengalami proliferasi, dan pada daerah ini ditemukan sel basal yang nukleusnya mengalami margination kromatin yang diduga adalah badan inklusi intra nucleus, walaupun jumlahnya sangat sedikit (Gambar 2). Pada lamina propria banyak ditemukan sel-sel mitosis, pembundungan serta perdarahan.

Hasil isolasi secara virologik terhadap spesimen yang berasal dari feses anjing RIVS 59 yang diambil 2 hari pasca klinis, menimbulkan CPE pada pasase ke 3 hari ke 5. Sedangkan spesimen yang berasal dari organ seperti usus, kerokan usus dan isi usus, tidak menghasilkan isolat. Titer isolat yang dihasilkan $2 \log_2$, sehingga pasase lanjutan dilakukan untuk meningkatkan titer dan perbanyak isolat virus untuk identifikasi lebih lanjut, seperti tertuang pada Tabel 2. Sedangkan identifikasi dengan uji HI terhadap serum standar CPV, menunjukkan bahwa isolat tersebut menetralkan antisera CPV hingga titer $8 \log_2$ (256) seperti titer antisera standar. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa Isolat RIVS 59 merupakan isolat virus CPV. Walaupun hasil pemeriksaan histopatologi menunjukkan bahwa kelainan yang ditimbulkan bukan merupakan perubahan CPV yang khas. Hal ini diduga karena pemberian vaksinasi turut membantu timbulnya respon imun terhadap CPV, sehingga gejala klinis dan kerusakan yang ditimbulkan tidak khas seperti yang ditimbulkan oleh infeksi CPV.

Kadaver ke dua yang juga menunjukkan perubahan-perubahan yang mengarah pada infeksi virus adalah kadaver No. 926-D. Kadaver 926-D adalah anjing Rotweiler, umur 6 bulan, telah divaksinasi CPV 2 bulan sebelum mati. Gejala klinis yang ditimbulkan



Gambar 2. Dilatasi kript pada duodenum anjing, dengan marginasi kromatin sel epitel basal. H & E (40 x 10)



Gambar 3. Pemendekan villi dan dilatasi kript duodenum anjing. H & E (16 x 10)

adalah tidak napsu makan selama 1 minggu, mencret semula kuning lama-kelamaan bercampur darah sehingga berwarna menjadi coklat dan kehitaman, lesu, kurus dan mati pada hari ke empat setelah mencret berdarah. Perubahan histopatologis menunjukkan bahwa villi usus mengalami nekrosis dan pada daerah ini banyak ditemukan *clump* bakteri. Daerah lamina propria terjadi infiltrasi berat sel-sel limfosit, neutropil dan sel plasma. Hampir sebagian besar kript mengalami kolaps, sehingga struktur kript tidak terlihat. Pada beberapa kript yang masih tersisa, tidak ditemukan badan inklusi. Submukosa mengalami oedema dan pembendungan. Gambaran tersebut terlihat

pada gambar 3. Dari gambaran ini terlihat bahwa infeksi telah berlanjut, sehingga isolat virus tidak berhasil diperoleh.

MACARNEY *et al.* (1984) menggambarkan 4 macam perubahan yang terjadi pada usus akibat infeksi CPV pada anjing berdasarkan waktu terjadinya infeksi.

Pertama, perubahan tipe A, umumnya terjadi 3-4 hari pasca infeksi CPV. Pada perubahan tipe ini hampir tidak terjadi perubahan pada stuktur usus, kecuali ditemukannya beberapa epitel kript yang mengalami hiperplasia, dengan inti sel yang mengecil dan berwarna kehitaman.

Kedua, perubahan tipe B, terjadi 4-6 hari pasca infeksi. Pada usus telah terjadi kerusakan yang agak menonjol berupa dilatasi kriptas dengan sel epitelnya berubah menjadi bentuk pipih dan ditemukan sedikit badan inklusi intra nuclear. Villi usus menjadi sedikit memendek yang dilapisi oleh sel-sel epitel berbentuk kuboidal yang bervakuolisasi. Fokal ulserasi juga ditemukan pada lamina propria. Pada perubahan tipe B, umumnya gejala mencret berdarah mulai tampak, yang apabila feses diambil pada periode ini kemungkinan mendapatkan isolat virus lebih besar. Gambaran tipe B ini mirip dengan perubahan yang ditemukan pada kasus No. spesimen 087, yang daripadanya telah berhasil diisolasi virus CPV (RIVS 59) pada feses. Gambaran yang hampir sama juga ditemukan pada spesimen No. 926-D, namun isolat virus tidak berhasil diisolasi.

Ketiga, perubahan tipe C, terjadi 7-8 hari pasca infeksi. Umumnya anjing tersebut telah mati atau sembuh. Hampir keseluruhan struktur usus berupa atrofi vili dan sisa mukosa mengalami kolaps dan kriptas hampir tidak bisa ditemukan lagi. Beberapa kriptas masih bisa dikenali dari sisa jaringan ikat pada daerah lamina propria. Infiltrasi neutropils masih terlihat di lamina propria, disertai dengan oedema dan pembendungan di daerah tersebut.

Keempat, perubahan tipe D, umumnya anjing tersebut telah mati atau sembuh, yang ditandai dengan perubahan regenerasi dari usus terutama terjadi pada kriptas. Sel-sel basal dan beberapa sel yang mengalami mitosis banyak ditemukan pada tipe ini.

Pada umumnya perubahan mulai terjadi 4 hari setelah infeksi yang ditandai dengan perubahan tipe A. Selanjutnya perubahan akan semakin parah pada 7-8 hari pasca infeksi dan berubah menjadi perubahan tipe B dan C. Umumnya, tipe C terjadi setelah 8 hari pasca infeksi dimana anjing tersebut mati atau sembuh. Berdasarkan penelitian diatas, juga telah diketahui bahwa kerusakan pada duodenum dan jejunum terjadi lebih awal dan lebih parah dibandingkan dengan bagian usus yang lain seperti ileum.

Dari data tersebut dapat dimengerti mengapa pada beberapa kasus CPV tidak berhasil diisolasi virus, meskipun secara histopatologik terjadi perubahan yang mengarah infeksi CPV. Hal ini disebabkan waktu pengambilan sampel yang kurang tepat pada saat viremia atau virus teresresikan melalui feses. Dari data isolasi virus juga terlihat feses yang diambil setelah 3 hari sakit dengan gejala klinis mencret berdarah tidak dapat diisolasi, sedangkan isolat yang diperoleh pada penelitian ini hanya berasal dari feses yang mengalami perdarahan 1 hingga 2 hari setelah gejala klinis tersebut terlihat. Disamping itu, antibodi telah mulai terbentuk dengan titer yang tinggi setelah 4 hari pasca sakit, sehingga kemungkinan kecil untuk mendapatkan isolat karena adanya antibodi yang cukup banyak dalam tubuh anjing tersebut. Makin cepat pengambilan sampel feses

setelah gejala klinis muncul untuk isolasi virus, makin besar peluang mendapatkan isolat.

Menurut NARA *et al.* (1983), antibodi yang terbentuk pada usus adalah IgA. Hal ini berarti pembentukan imunitas lokal terhadap CPV akan menjadi penting dalam menimbulkan proteksi terhadap infeksi CPV. Antibodi IgA ini dapat menyebabkan ternetralisasinya virus yang dieksresikan pada feses sehingga apabila waktu yang tidak tepat dan lama pada saat pengambilan feses, kemungkinan tidak berhasil mendapatkan isolat menjadi lebih besar.

Dari isolat yang diperoleh, menunjukkan bahwa hanya satu isolat yang diperoleh dari kerokan mukosa usus yang secara klinis diduga terinfeksi CPV. Isolat lainnya diperoleh dari feses yang menunjukkan diare berdarah. Tidak semua feses yang berasal dari anjing yang mengalami diare berdarah, bahkan cenderung terkena infeksi CPV, berhasil diisolasi. Namun peluang mendapatkan isolat virus CPV asal feses yang mengalami diare berdarah lebih besar dibandingkan dengan feses yang hanya mengalami diare biasa.

Dari penelitian ini juga teramati bahwa meskipun anjing telah divaksinasi, namun kasus klinis CPV masih dapat terjadi. Hal ini mungkin dapat disebabkan oleh beberapa hal diantaranya:

Pada saat vaksinasi anjing telah terinfeksi CPV, sehingga setelah beberapa hari pemberian vaksinasi telah memicu gejala klinis CPV. Sementara imun respon yang dihasilkan belum sempat melindungi anjing tersebut dari infeksi CPV.

Kemungkinan terjadinya mutasi CPV baik yang berasal dari alam maupun dari vaksin terutama vaksin hidup, sehingga proteksi yang dihasilkan vaksinasi tidak melindungi anjing tersebut dari serangan CPV.

Waktu yang tidak tepat saat divaksinasi, dimana kondisi anjing tersebut tidak benar-benar sehat, misalnya terdapat infestasi ektoparasit dan endoparasit, atau gizi yang tidak baik yang sangat mempengaruhi pembentukan respon imun.

Telah melewati jadwal vaksinasi ulang yang ditentukan, sehingga antibodi yang terkandung dalam tubuh anjing tersebut tidak cukup untuk melindungi anjing itu dari serangan CPV.

Dari data tersebut terlihat bahwa meskipun secara klinis terdapat diare berdarah yang diduga disebabkan oleh CPV, tetapi berdasarkan HP dan isolasi virus belum tentu disebabkan oleh CPV, bahkan isolat virus masih sulit diperoleh. Isolat yang diperoleh tidak menunjukkan asal isolat tersebut, apakah berasal dari infeksi alam atau merupakan mutan dari infeksi alam dan vaksin. Diperolehnya beberapa isolat virus CPV lokal yang berasal dari anjing yang belum tervaksinasi, merupakan indikasi bahwa anjing tersebut telah terinfeksi oleh virus lapang, yang akan membuka wawasan baru untuk mengembangkan penelitian vaksin CPV strain lokal. Untuk mengetahui originalitas isolat-

isolat tersebut apakah merupakan hasil infeksi alam atau merupakan mutan dari virus alam atau dari vaksin yang beredar di Indonesia, maka pendekatan biologi molekuler perlu diujicobakan. Mengingat akhir-akhir ini banyak sekali impor anjing dari luar negeri dan vaksin komersial CPV baik yang hidup maupun yang mati, beredar di pasaran yang juga merupakan vaksin impor.

KESIMPULAN

Meskipun pada saat penelitian ini, penyakit CPV telah banyak dilaporkan kejadiannya di Indonesia, namun isolat virus baru berhasil diisolasi. Isolat virus CPV lebih banyak diperoleh dari feses anjing yang mengalami diare berdarah, yang secara klinis didiagnosa sebagai infeksi CPV. Waktu pengambilan sampel feses perlu diperhatikan untuk dapat menjangkau isolat virus lebih banyak. Makin cepat sampel feses diperoleh dari gejala klinis untuk isolasi virus, makin besar peluang mendapatkan isolat. CPE akibat virus CPV umumnya muncul pada hari ke-5 pasase ke-3. Perlakuan cair beku inokulum yang akan dipasase pada biakan jaringan dapat membantu meningkatkan peluang diperolehnya isolat virus CPV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis tujukan pada Drh. Ni Ketut Karuni, Drh. Pratiwi, Drh. Horizona, Dr Agus Wiyono, Drh Masa Tenaya MSc., Drh. Cucu Kartini, Drh. Luciana Suhendra dan teman-teman sejawat pada Klinik Hewan Pandawa dan Klinik Hewan A Yani di Bogor, Rumah Sakit Hewan Jakarta dan Rumah Sakit Hewan IPB Darmaga, Bogor, yang telah banyak membantu mendapatkan sampel, sehingga penelitian ini dapat berhasil dengan baik. Saran, Referen antigen dan antisera CPV dari Dr. Graham Burgess dan Dr. Janice Smith, James Cook University, penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya. Seluruh kolega di bagian Virologi yang telah memberikan saran, teknisi di Bagian Virologi dan Patologi, serta Sdr. Heri Nasution, yang telah banyak membantu penelitian ini baik di lapang maupun di laboratorium, sangat dihargai. Penelitian ini dibiayai oleh Dana APBN tahun 2002-2003.

DAFTAR PUSTAKA

- DRURY, R.A.B and E.A WALLINGTON. 1980. Carleton's, Histological Technique. 5th Editions. Oxford University Press, New York.
- MACARNEY, L., I.A.P. McCANDLISH, H. THOMPSON and CORNWELL, H.J.C. 1984. Canine parvovirus enteritis 1: clinical, haematological and pathological features of experimental infection. *Vet. Rec.* 115: 201-210.
- MEUNIER, P.C., B.J. COOPER, M.J.G. APPEL and D.O. SLAUSON, 1985a. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis. I. The important viraemia. *Vet. Pathology.* 22: 60-71.
- MEUNIER, P.C., B.J. COOPER, M.J.G. APPEL, M.E LANIEU and D.O. SLAUSON, 1985b. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: sequential virus distribution and passive immunization studies. *Vet. Pathology.* 22: 617-624.
- MILDBRAND, M.M., Y.A. TERAMOTO, J.K. COLLINS, A. MATHYS and WINSTON, S. 1984. Rapid detection of Canine Parvovirus in feces using monoclonal antibodies and enzyme-linked immunoassay. *Am. J. Vet. Res.* 45: 2281-2284.
- NARA, P. L., K. WINTERS, J.B. RICE, K.G. OLSEN and S. KRAKOWKAS. 1983. Systemic and local intestinal antibody response in dogs given both infective and inactivated canine parvovirus. *Am. J. Vet. Res.* 44: 1989-1995.
- NELSON, D.T., S.L. EUSTIS, J.P MC ADARAGH, I. STOTZ. 1979. Lesions of spontaneous canine viral enteritis. *Vet. Pathol.* 16: 680-686.
- RIMMELZWAAN, G.F. 1990. Canine Parvovirus Infection: Novel Approaches to Diagnosis and Immune Prophylaxis. Thesis, pp 155.
- SMITH, J.R., FARMER, T.S and JOHNSON, R.H. 1980. Serological observations on the epidemiology of parvovirus enteritis of dogs. *Aust. Vet. J.* 56: 149-150.
- Sendow dan Syafriati. 2003.
- Truyen. 2002.

Filename: Indrawati-9.1
Directory: E:\Vol 9.1
Template: C:\WINDOWS\Application Data\Microsoft\Templates\Normal.dot
Title: Master-JITV
Subject:
Author: Iip Priadi
Keywords:
Comments:
Creation Date: 8/23/04 10:17 AM
Change Number: 11
Last Saved On: 10/11/04 5:06 PM
Last Saved By: Microsoft
Total Editing Time: 54 Minutes
Last Printed On: 10/11/04 5:26 PM
As of Last Complete Printing
Number of Pages: 9
Number of Words: 4,983 (approx.)
Number of Characters: 28,405 (approx.)