

Studi Histopatologi Limpa Anjing Penderita Distemper Dikaitkan Dengan Sebaran Sel-Sel Radang Pada Otak Dan Paru

(HISTOPATHOLOGICAL STUDY OF SPLEEN ON DOGS INFECTED WITH DISTEMPER ASSOCIATED TO INFLAMMATION IN THE BRAIN AND LUNGS)

Muhamad Furkan Fadilah¹, I Ketut Berata², I Made Kardena^{2*}

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

²Laboratorium Patologi Veteriner Universitas Udayana

Jl. PB. Sudirman Denpasar-Bali

*Email: *adenbali@yahoo.com*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya sebaran sel radang berdasarkan tingkat keparahan penyakit pada anjing distemper ditinjau dari tingkat peradangan pada organ limpa, otak dan paru. Sampel yang digunakan 20 sampel yang diambil dari organ limpa, otak, dan paru dari anjing penderita distemper. Organ-organ tersebut diproses dalam pembuatan preparat histopatologi dengan teknik paraffin *embedded block* dan diwarnai dengan Harris Hematoksilin-Eosin. Preparat histopatologi diperiksa berdasarkan lesi peradangan pada limpa, otak dan paru. Hasil pemeriksaan pada limpa, otak dan paru menunjukkan adanya lesi berupa sel-sel limfoid yang bervariasi pada masing-masing organ tersebut. Dari 20 sampel yang diperiksa sesuai dengan derajat peradangan diperoleh data, sembilan sampel (45%) limpa mengalami peradangan ringan, tujuh sampel (35%) peradangan sedang, dan empat sampel (20%) peradangan berat. Pada otak tiga sampel (15%) tidak mengalami peradangan, 12 sampel (60%) peradangan ringan, lima sampel (25%) peradangan sedang, dan tidak teramati adanya peradangan berat. Paru enam sampel (30%) peradangan ringan, 11 sampel (55%) peradangan sedang, dan tiga sampel (15%) peradangan berat. Dapat disimpulkan peradangan secara mikroskopis dapat diamati terjadi pada limpa, otak dan paru dari anjing yang terinfeksi virus canine distemper.

Kata kunci: histopatologi, distemper, limpa, otak, paru

ABSTRACT

This study aim was to determine the distribution of inflammatory cells in canine distemper in terms of the level of inflammation in the spleen, brain and lungs. The sample used 20 infected dogs which from the spleens, brains, and lungs of the dogs were collected. These organs were processed for histopathological observation using harris hematoxylin-eosyn stain. The inflammation of the organs examined by using binocular microscope with 200X magnification. the results showed that inflammation was observed in the spleens: 9 samples (45%) showed the presence of lymphoid cells that experienced a mild inflammation 7 (35%) moderate inflammation, and 4 (20%) severe inflammation in brain, 3 samples (15%) did not show observe inflammation, 12 (60%) mild, 5 (25%) moderate inflammation, and not observed any severe inflammation in brain, pulmonary: 6 (30%) mild inflammation, 11 (55%) moderate inflammation, and 3 (15%) severe inflammation. It can be concluded that the inflammation was observed microscopically in the spleen, brain and lung in the dog that infected with canine distemper virus

Keywords: histopathology, distemper, spleen, brain, lungs

PENDAHULUAN

Distemper adalah salah satu penyakit virus menular yang dapat menyerang anjing. Penyakit distemper disebabkan oleh virus dari genus *Morbillivirus*, famili *Paramyxoviridae* dan mempunyai hubungan dekat dengan virus *measles* dan Rinderpest (Frisk *et al.*, 1999; Mochizuki *et al.*, 1999; Rudd *et al.*, 2006). Virus distemper dapat menyerang hewan dari famili *Canidae*, *Mustelidae*, dan *Procyonidae* (Headley dan Graca, 2000). Penyakit tersebut telah dilaporkan kejadiannya pada mamalia air seperti anjing laut (Kennedy *et al.*, 2000) dan anjing liar di Afrika (Bildt *et al.*, 2002; Spenser dan Burroughs, 1992). Walaupun kucing dan babi dilaporkan dapat diinfeksi secara eksperimental, tetapi dianggap tidak penting dalam penyebaran penyakit distemper anjing (Headley dan Graca, 2000).

Virus penyebab penyakit distemper ini dapat menyerang anjing dengan gejala klinis yang bervariasi. Penyakit ini sangat sulit untuk disembuhkan sehingga jika tidak ditangani secara dini, penyakit distemper dapat menyebabkan kematian pada anjing. Penyakit distemper ditemukan hampir di seluruh dunia (Timoney *et al.*, 1992). Anjing yang terinfeksi penyakit distemper dapat menimbulkan gejala atau lesi pada mata, saluran respirasi, gastrointestinal, urogenital, sistem saraf, dan kulit (Koutinas *et al.*, 2004, Siegmund dan Frases, 2008). Anjing yang diserang pada umumnya berumur muda yaitu kurang dari satu tahun, hal ini terjadi karena pada umur ini terjadi penurunan antibodi maternal, tingkat stress yang tinggi karena masa pertumbuhan, dan serangan penyakit lain yang menurunkan kondisi tubuh (Suartha *et al.*, 2008). Iklim sangat berpengaruh terhadap terjadinya penyakit distemper (Uzunova dan Koleva, 2005).

Secara patologi anatomi, anjing yang terinfeksi penyakit distemper dapat

menyebabkan infeksi multi-sistemik. Gambaran klinis darah perifer dari anjing yang terinfeksi virus ini mula-mula mengakibatkan terjadinya lymphopenia, walaupun pada tingkat sub akut sampai kronis diikuti dengan meningkatnya jumlah monosit/*peripheral blood mononuclear cells* (Nielsen *et al.*, 2009). Secara histopatologi dapat terjadi perubahan ringan sampai nekrosis terutama folikel jaringan limfoid, dimana dapat ditemukan *proliferasi* limfoid.

Secara histopatologi, paru-paru dari hewan yang terinfeksi penyakit distemper akan tampak mengalami peradangan. Pneumonia interstitialis akan teramati pada paru-paru yang diikuti dengan banyak infiltrasi sel-sel radang. Bila berlangsung kronis, reaksi peradangan akan meluas sampai ke bagian alveoli. Apabila terjadi infeksi sekunder terutama terinfeksi oleh bakteri pyogenes, peradangan dengan eksudat purulen dapat juga terjadi pada organ ini (Chvala *et al.*, 2007).

Kerusakan sel-sel otak yang terjadi pada infeksi penyakit distemper anjing dikarenakan reaksi demyelinisasi pada saraf pusat akibat reaksi radang. Secara histopatologi, otak akan tampak terjadi peningkatan sel-sel glia yang diikuti dengan peningkatan kadar sitokin karena pengaruh reaksi radang pada daerah tersebut (Stein *et al.*, 2008).

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Materi yang dipergunakan dalam penelitian adalah kasus distemper pada anjing yang masuk ke Laboratorium Patologi Veteriner dan telah dikonfirmasi dengan uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*) di Laboratorium Virologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Data kasus yang diambil adalah data dari tahun 2009 sampai tahun 2013, berupa preparat histopatologi jaringan limpa, otak, dan paru.

Pembuatan Preparat Histopatologi

Proses pembuatan preparat histopatologi dapat diawali dengan organ yang diperiksa dipotong kecil dengan ukuran 1 cm, kemudian direndam dalam larutan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10%. Sampel organ selanjutnya diperkecil lagi dengan irisan tipis untuk disimpan dalam *tissue cassette* dan dilakukan fiksasi dalam larutan NBF selama 24 jam. Setelah difiksasi, dilakukan dehidrasi bertingkat dengan cara merendam potongan organ secara berturut-turut ke dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, alkohol absolut selama beberapa jam. Tujuan dari proses dehidrasi adalah menarik cairan yang ada dalam sitoplasma. Kemudian dilakukan *clearing* atau penjernihan dengan merendam potongan organ dalam *Xylol* atau *Toluena* dan *Benzena*, lalu infiltrasi dengan paraffin cair. Sampel organ dilakukan *embedding* dan *blocking*, dengan paraffin cair untuk mempermudah pemotongan jaringan dan disimpan dalam lemari es selama 24 jam. *Block sectioning* atau pemotongan dengan alat *microtome* ± 5 mikron. Pada tahap terakhir adalah tahap pewarnaan dengan metode *Harris Hematoxylin-Eosin* dan *Mounting* media, selanjutnya preparat histopatologi diamati di bawah mikroskop dan dicatat perubahan yang ditemukan. Preparat dipilih dan diberi kode sesuai dengan nomor protokol nekropsis di Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Preparat histopatologi anjing yang diperiksa meliputi limpa, otak, dan paru di bawah mikroskop, mulai dari pembesaran 100X, 200X, dan 400X, masing-masing pada lima lapang pandang mikroskopik.

Variabel Penelitian

Variabel yang diperiksa pada jaringan limpa meliputi kategori lesi sebagai berikut:

T: Tidak terjadi peradangan

R (ringan): Jika proliferasi sel-sel limfoid sedikit yang ditandai masih tampaknya pulpa putih dan pulpa merah pada limpa.

S (sedang): Jika proliferasi sel limfoid banyak/padat, tetapi belum ada bentuk *mikrolimfoma*.

B (berat): Jika proliferasi sel limfoid banyak sampai ada bentuk mikrolimfoma
Variabel yang diperiksa pada jaringan otak dikategorikan lesi sebagai berikut:

T: Tidak terjadi peradangan

R (ringan): Jika infiltrasi dan proliferasi sel radang sedikit/lokal.

S (sedang): Jika infiltrasi dan proliferasi sel radang menyebar/ multifokal.

B (berat): Jika sel-sel radang difusa sampai perivaskular cuffing.

Variabel yang diperiksa pada jaringan paru-paru dikategorikan radang sebagai berikut:

T: Tidak terjadi peradangan

R (ringan): Jika sel-sel radang sedikit/lokal menginfiltrasi paru.

S (sedang): Jika sel-sel radang yang menginfiltrasi sedikit tapi tersebar (multifokal).

B (berat): Jika infiltrasi sel radang padat/difusa pada paru.

Analisis Data

Perubahan-perubahan histopatologi yang diamati kemudian ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif kualitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan 20 sampel preparat histopatologi organ limpa, otak, dan paru dari anjing yang menderita distemper sesuai dengan derajat peradangan diperoleh data yang bervariasi, sembilan dari 20 sampel (45%) limpa mengalami peradangan ringan, tujuh (35%) mengalami peradangan sedang, dan empat (20%) mengalami peradangan berat. Pada otak, tiga dari 20 (15%) otak tidak mengalami peradangan, 12 (60%) otak mengalami peradangan ringan, lima (25%) otak

mengalami peradangan sedang, dan tidak teramati adanya peradangan derajat berat. Pada paru, enam dari 20 (30%) mengalami peradangan ringan, 11 (55%) paru peradangan sedang, dan tiga (15%)

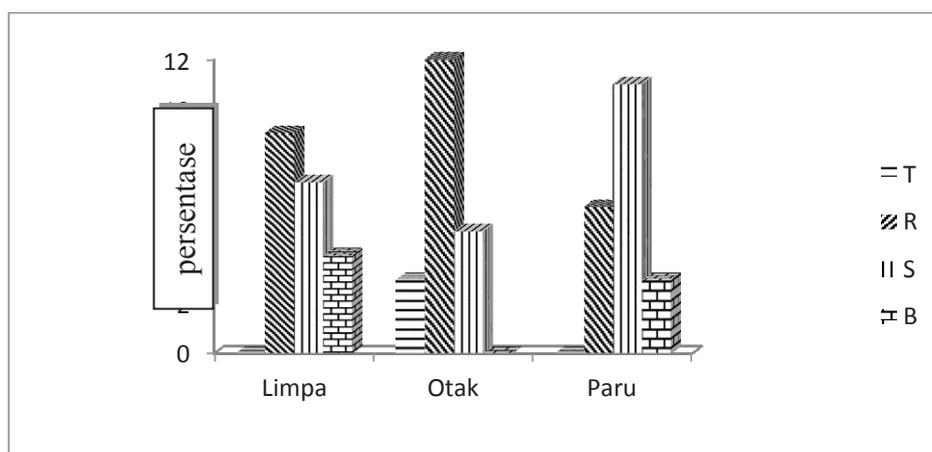
paru mengalami peradangan berat. Hasil pemeriksaan histopatologi limpa, otak, dan paru disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan histopatologi limpa, paru dan otak

| Katagori | Jumlah kasus sesuai tingkat peradangan | | |
|-----------|--|------------|------------|
| | Limpa | Otak | Paru |
| Tidak ada | - | 3 (15 %) | - |
| Ringan | 9 (45 %) | 12 (60 %) | 6 (30 %) |
| Sedang | 7 (35 %) | 5 (25 %) | 11 (55 %) |
| Berat | 4 (20 %) | - | 3 (15 %) |
| Jumlah | 20 (100 %) | 20 (100 %) | 20 (100 %) |

Pada limpa dan otak terjadi kesamaan perubahan histopatologi dalam derajat peradangan. Peradangan ringan diamati pada 12 sampel otak, sedangkan pada limpa peradangan terjadi pada sembilan sampel. Paru peradangan tertinggi pada kategori sedang, yaitu terjadi pada 11 organ sampel (55%). Paru-paru merupakan organ yang tampaknya lebih parah terserang antigen/virus distemper. Hal ini berkaitan dengan organ paru yang merupakan organ paling banyak mengandung kapiler darah, sehingga transportasi sel-sel radang melalui sirkulasi darah lebih intensif ke paru-paru. Hal ini sesuai dengan laporan (Koutinas *et al.*, 2004,

Siegmund, 2008) anjing yang terserang virus distemper dapat menimbulkan gejala atau lesi yang parah pada saluran respirasi. Organ respirasi terutama paru-paru lebih banyak mengalami peradangan dibandingkan dengan organ lainnya pada sistem organ yang lain. Selain itu, patogenesis penyakit distemper pada anjing, umumnya akibat agen virus distemper masuk melalui saluran respirasi. Virus yang masuk tersebut selanjutnya mengalami replikasi pada saluran respirasi dan juga paru-paru. Dari saluran respirasi dan paru-paru yang terinfeksi inilah virus lalu menyebar ke sistem organ yang lain, yang biasanya melalui aliran darah (viremia).

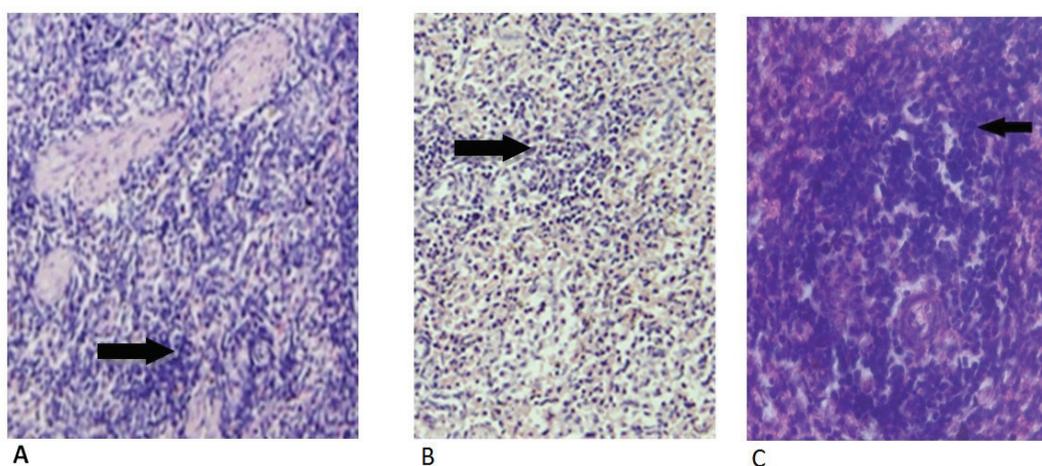


Gambar 1. Hasil pemeriksaan tingkat peradangan pada limpa, otak dan paru dalam persentase.

Dari total 20 sampel yang diperiksa pada limpa terdapat sembilan sampel yang mengalami peradangan ringan, tujuh sampel mengalami peradangan sedang, dan empat sampel mengalami peradangan berat. Pada otak terdapat tiga sampel yang tidak mengalami peradangan, 12 sampel mengalami peradangan ringan, lima sampel mengalami peradangan sedang dan tidak terjadi peradangan berat. Pada paru enam sampel mengalami peradangan ringan, 11 sampel mengalami peradangan sedang

dan tiga sampel yang mengalami peradangan berat. Pada limpa tampak terjadi peradangan yang hampir menyeluruh bahkan terdapat empat sampel yang mengalami peradangan berat karena limpa merupakan organ yang berperan penting pada infeksi virus. Selain mengalami peradangan, limpa juga akan mengalami perubahan berupa proliferasi limfoid (Liang *et al.*, 2007).

Gambaran tingkat peradangan pada limpa, otak, dan paru dapat dilihat pada Gambar 2, 3 dan 4

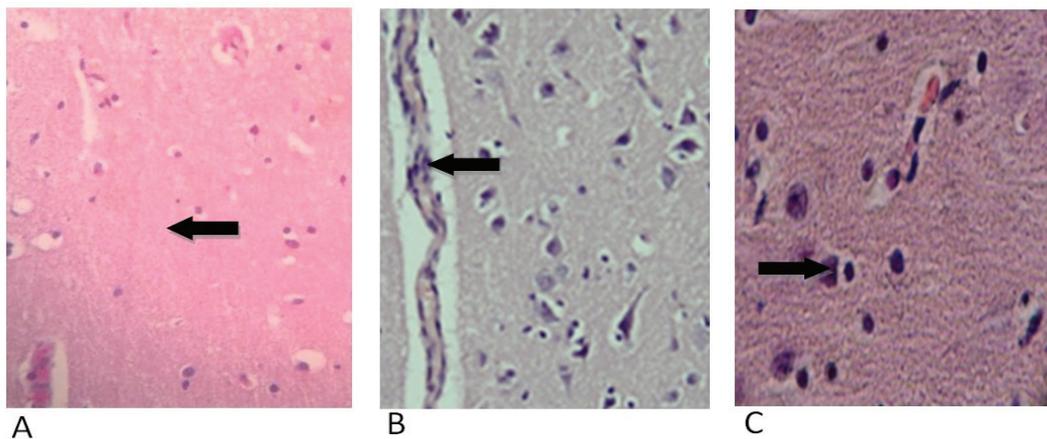


Gambar 2. Histopatologi limpa anjing penderita distemper, dengan pewarnaan HE (200X); tanda panah menunjukkan adanya sel-sel radang. A terjadi peradangan yang padat, namun belum ada bentuk *mikrolimfoma*; B terjadi peradangan ringan yang ditandai dengan tampaknya pulpa putih dan pulpa merah; C terjadi peradangan yang banyak/padat sampai berbentuk *mikrolimfoma*.

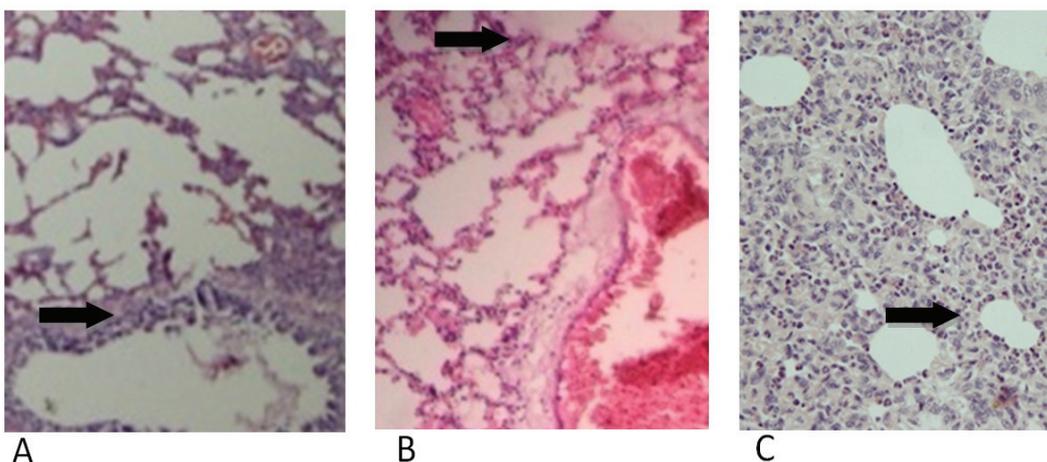
Kategori peradangan berat pada limpa ditemukan empat dari 20 sampel organ (20 %), paru-paru tiga organ (15 %) dan pada otak tidak terjadi peradangan berat. Hasil ini menyimpulkan bahwa hubungan tingkat keparahan pada limpa lebih terkait langsung dengan paru, bahkan ada tiga organ (15 %) pada otak tidak ada peradangan. Peradangan akut akan terjadi pada paru dan limpa, namun pada otak sulit terjadi kronis karena barrier otak yang sulit ditembus virus dalam waktu yang singkat.

Penyebab terjadinya peradangan pada otak adalah adanya kerusakan sel-sel otak yang terjadi pada infeksi penyakit distemper anjing. Kerusakan sel-sel otak tersebut menimbulkan reaksi demyelinisasi pada syaraf pusat akibat reaksi radang yang terjadi di otak yang terinfeksi virus.

Secara histopatologi, otak mengalami peningkatan infiltrasi sel-sel glia yang diikuti dengan peningkatan kadar sitokin karena pengaruh reaksi radang di daerah tersebut (Stein *et la.*, 2008).



Gambar 3. Histopatologi otak anjing penderita distemper dengan pewarnaan HE (200X); tanda panah menunjukkan adanya sel-sel radang; A tidak terjadi peradangan (normal); B terjadi peradangan yang sedikit dan tidak menyebar; C terjadi peradangan yang menyebar/multifokal.



Gambar 4. Histopatologi paru anjing penderita distemper dengan pewarnaan HE (200X); tanda panah menunjukkan adanya sel-sel radang; A terdapat sel-sel radang sedikit/lokal yang menginfiltirasi paru tetapi tersebar (multifokal); B terdapat sel radang sedikit/lokal meninfiltirasi paru; C Terjadi peradangan padat sampai mengalami difusa, sehingga alveoli pada paru semakin menipis.

Secara mikroskopis, paru-paru dari hewan yang terinfeksi akan tampak mengalami peradangan. Pneumonia interstitialis akan teramati pada paru-paru yang diikuti dengan banyak infiltrasi sel-sel radang. Bila berlangsung kronis, reaksi peradangan akan meluas sampai ke bagian alveoli. Kejadian penyakit akan bertambah parah jika diikuti dengan infeksi sekunder. Anjing penderita distemper sering mengalami infeksi sekunder oleh bakteri pyogenes, dengan

menimbulkan peradangan dengan eksudat purulen (Chvala *et al.*, 2007).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa variasi peradangan pada limpa tidak berkaitan langsung dengan peradangan pada otak tetapi variasi peradangan pada limpa berkaitan dengan peradangan pada paru.

Saran

Dari penelitian di atas dapat disarankan, perlu penelitian yang lebih lanjut tentang faktor-faktor yang berkaitan dengan tingkat keparahan lesi histopatologi

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya penelitian ini, terutama kepada dosen pembimbing dan dosen penguji serta pegawai Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.

DAFTAR PUSTAKA

- Bildt, VMWG, Kuiken T, Visces AM, Lema S, Fitzjohn TR, Osterhaus ADME. 2002. Distemper outbreak and its effect on African wild dog conservation. *J Emerg Infect Dis*, 8(2): 211-213.
- Chvala S, Benetka V, Mostl K, Zeugswetter F, Spargser J, Weissenböck H. 2007. Simultaneous canine distemper virus, canine adenomavirus type 2, and mycoplasma cynos infection in a dog with pneumonia. *Vet Path*, 44(4): 508-512.
- Frisk AL, Koning M, Moritz A, Baumgartener W. 1999. Detection of canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription-PCR (RT-PCR) using serum, whole blood, and cerebrospinal fluid from dogs with distemper. *J Clin Microbiol*, 37: 3634-36343.
- Headley SA, Graca DL. 2000. Canine distemper: epidemiological finding of 250 cases. *Brazilian J Vet Res Anim Aci*, 37: 136-140
- Kennedy S, Kulken T, Jepson TD, Deaville R, Forsyth M, Barret T, van De Bildt MWG, Osterhaus ADME, Eybatov T, Duck C, Kydyrmanov A, Mitrofanof I, Wilson S. 2000. Mass die-off of caspian seals caused by canine distemper virus. *Emerg Infect Dis*, 6: 637-639.
- Koutinas AF, Baumgärtner W, Tontis D, Polizopoulou, Saridomichelakis MN, Lekkas S. 2004. Histopathology and immuno histochemistry of canine distemper virus-induced footpad hyperkeratosis (hard pad disease) in dog with natural canine distemper. *J Vet Pathol*, 41(1): 2-9.
- Liang CT, Chueh LL, Pang VF, Zhuo YX, Liang SC, Yu CK, Chiang H, Lee CC, Liu CH. 2007. A Non-biotin Polymerized horseradish-peroxidase method for the immuno histochemical diagnosis of canine distemper. *J Com Pathol*, 136(1): 57-64.
- Mochizuki M, Hashimoto M, Hagiwara S, Yoshida Y, Ishiguro. 1999. Genotypes of canine distemper virus determined by analysis of the hemagglutinin genes of recent isolates from dogs in Japan. *J Clin Microbiol*, 37: 2936-2942.
- Nielsen L, Sqaard M, Jensen TH, Andersen MK, Aasted B, Blixencrone-Mqller M. 2009. Lymphotropism and host responses during acute wild-type canine distemper virus infections in a highly susceptible natural host. *J General Virol*, 90: 2157-2165.
- Rudd PA, Catenneo R, VonMessling V. 2006. Canine distemper virus used both the anterograde and the hematogenous pathway for neuroinvasion. *J Virol*, 80: 9361-9370

- Siegmund OH, Frases CM. 2008. *The Merck Veterinary Manual*. Rahway New York
- Spenser J, Borroughs R. 1992. Antibody Response to Canine Distemper Vaccine in African Wild Dogs. *J Wildl Dis*, 28: 443-444.
- Stein VM, Schreiner NMS, Moore PF, Vandeveld M, Zurbriggen A, Tipoid A. 2008. Immuno phenotypical characterization of monocytes in canine distemper virus infection. *J Vet Microbiol*, 131(3-4): 237-246.
- Suartha IN, Mahardika IGNK, Dewi IASC, Nursanty NKD, Kote YLS, Handayani AD, Suartini IGAAA. 2008. Penerapan teknik reverse transcriptase-polymerase chain reaction untuk peneguhan diagnosis penyakit distemper pada anjing. *J Vet*, 9(1): 25-32.
- Subronto. 2006. *Penyakit Infeksi Parasit dan Mikroba Pada Anjing dan Kucing*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Timoney JF, Gillessipie JH, Scoot FW, Barlough JE. 1992. *Hagan and Burner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animal*. 8Ed. New York: Cornell: 792-802.
- Uznova KI, Kloeva KA. 2005. Importance of microclimate, floor type and floor bedding for the incidence of catarrhal rhinitis and laryngitis in dogs. *Bulgarian J Vet Med*, 8(2): 135-139.