

Tes Penapisan Rapid ICT *Leptospira* IgM tanpa tes konfirmasi sebagai panduan diagnosis penyakit Weil

Anti Dharmayanti

KSM Patologi Klinik RSUP Fatmawati, Jakarta Selatan, Indonesia.

Abstrak

Pasien pria usia 54 tahun datang dengan diagnosis kerja Leptospirosis, dengan permintaan pemeriksaan ureum, kreatinin, elektrolit, *Leptospira* IgG dan IgM. Hasil pemeriksaan laboratorium didapatkan Hb 10,9 g/dL, leukosit $22,9 \times 10^3/\mu\text{L}$, trombosit $92 \times 10^3/\mu\text{L}$, bilirubin direk 7,2 mg/dL, bilirubin indirek 2,30 mg/dL, ureum 338 mg/dL, kreatinin 10,3 mg/dL dan tes ICT *Leptospira* IgM positif. Pasien tinggal di lingkungan yang sering banjir dan banyak tikus. Pemeriksaan fisik didapatkan demam, ikterik, conjunctival suffusion dan nyeri tekan M.Gastrocnemius yang patognomonik, anuria dan melen. Pasien mengalami perbaikan setelah tindakan hemodialisis dan terapi antibiotik Ceftriaxone. Penegakkan diagnosis *Weil's disease*, berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik, gejala klinis dan ICT *Leptospira* IgM (+), meskipun Guideline WHO menyatakan perlunya tes konfirmasi untuk menegakkan diagnosis definitif. Diagnosis definitif dilakukan dengan pemeriksaan biakan dan serologis *Microscopic Agglutination Test /MAT (paired sera)*, dengan serokonversi (spesifisitas 97-99%). Kedua pemeriksaan tersebut sulit dilakukan dan mahal. Pemeriksaan rapid ICT *Leptospira* IgM yang berperan sebagai tes penyaring, mudah dilakukan dan hasilnya dapat diperoleh dalam waktu 20 menit, tetapi masih memerlukan tes konfirmasi. Diagnosis Leptospirosis/*Weil's disease* pada kasus ini hanya merupakan probable/presumptive diagnosis, karena tanpa tes konfirmasi, dan hanya berdasarkan anamnesis, gejala klinik, pemeriksaan fisik, tes penyaring rapid ICT *Leptospira* IgM yang positif, serta respon klinik yang baik

Keywords : *Weil's disease*, WHO, MAT, rapid ICT *Leptospira* IgM.

Abstract

A 54-year-old man diagnosed as Leptospirosis, request laboratory tests for ureum, creatinine, electrolytes, *Leptospira* IgG and IgM. Laboratory results showed 10.9 g/dL, leucocytes count $22.9 \times 10^3/\mu\text{L}$, thrombocyte $92 \times 10^3/\mu\text{L}$, direct bilirubin 7.2 mg/dL, indirect bilirubin 2.30 mg/dL, ureum 338 mg/dL, creatinine 10.3 mg/dL, as well as positive for *Leptospira* IgM. The patient is living in an environment that often got floods and infested with rats. Physical examinations revealed fever, jaundice, anuria, melen, and pathognomonic signs of conjunctival suffusion and pressure pain in Gastrocnemius muscle. Laboratory results showed Hb The patient improved after hemodialysis treatment and ceftriaxone antibiotic therapy. The diagnosis *Weil's disease* was based on anamnesis, physical examination, clinical symptoms and supported by a *leptospira* IgM antibody (+) although WHO Guidelines demand a confirmmatory test. Definitive diagnosis was achieved by culture and serology *Microscopic Agglutination Test (paired sera)* with seroconversion (specificity 97-99%). Both tests are technically difficult and costly. Rapid ICT *Leptospira* IgM test which act as a screening test is available. This test is easy to perform, and the result can be obtained in 20 minutes, but needs confirmation. The diagnosis Leptospirosis/*Weil's disease* in this case is a probable/presumptive diagnosis because no confirmatory test was done, and it is based only on anamnesis, clinical symptoms, physical examinations, a positive in the screening test using the ICT *Leptospira* IgM test and good clinical respons of therapy

Keywords: *Weil's disease*, WHO, MAT, rapid ICT *Leptospira* IgM.

Koresponden: Anti Dharmayanti, KSM Patologi

Klinik, Rumah Sakit Fatmawati, Jakarta Selatan, Indonesia.

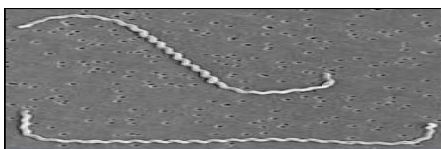
Email: antidharmayanti@yahoo.com

PENDAHULUAN

Leptospirosis (*Autumnal fever, Canicola fever, Canine typhus, flood fever, Haemorrhagic jaundice, Icteric leptospirosis, Mud fever dan Rice field fever*) yang merupakan *the emerging infectious diseases*, adalah penyakit infeksi akut disebabkan oleh *Leptospira* yang dapat menyerang manusia ataupun hewan (zoonosis).

Penularannya ke manusia berasal dari hewan pejamu yang terinfeksi *Leptospira* seperti babi, lembu, kambing, kucing, anjing, unggas, tikus, bajing, ular, akan tetapi pejamu utamanya adalah roden.¹⁻⁵ Leptospirosis tersebar di seluruh dunia terutama di negara tropis/subtropis dengan kelembaban dan curah hujan tinggi dengan kesehatan lingkungan dan pembuangan sampah yang kurang diperhatikan. Umumnya terjadi setelah penderita kontak dengan air terkontaminasi urin hewan terinfeksi *Leptospira*.¹⁻⁵

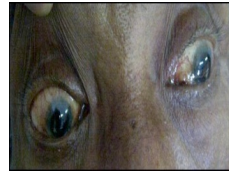
Leptospira termasuk ordo *Spirochaetales*, famili *Leptospiroaceae* dan genus *Leptospira*.^{1,5,7} Klasifikasi lain yaitu klasifikasi serovar (*serologic variant*) dikelompokkan berdasarkan reaksi aglutinasi. Serovar yang secara antigenik berdekatan dikelompokkan sebagai serogrup untuk tujuan diagnosis dan epidemiologi.^{4,8,9} *Leptospira* bersifat aerob obligat, optimal pada suhu 28-30°C (negara tropis dengan curah hujan dan kelembaban yang tinggi).¹⁻⁸



Gambar 1. *Leptospira serovar L. interrogans* dilihat dengan mikroskop elektron⁸

Masa inkubasi 2-26 hari. Gejala klinik sangat bervariasi, ringan tanpa gejala sampai sangat berat dengan panas tinggi, dapat disertai ikterik (10%), nyeri otot dan sendi hebat, kelainan pernafasan, hati, ginjal sampai penurunan kesadaran.¹⁻⁴

Gejala klinik yang menonjol adalah demam, ikterus, nyeri sendi dan mialgia dan nyeri tekan sangat hebat, terutama di *M.Gastrocnemius*, dan sering disertai perdarahan konjungtiva uni/bilateral dan fotofobia (*Conjunctival suffusion bilateral*) merupakan gejala spesifik, yang umumnya timbul pada hari ke 3 sampai ke 7.^{1-3,5,8,9}



Pasien (tn.M)
*suffusion*⁷

Conjunctival

Kasus Leptospirosis berat dengan gejala karakteristik berupa demam tinggi, manifestasi perdarahan, kuning (jaundice) dan disertai GGA dikenal sebagai *Weil's Disease*, dengan angka kematian sangat tinggi.^{1,8,10,11} Tindakan hemodialisis, merupakan indikasi pada GGA, jika didapatkan kenaikan serum kreatinin $\geq 0,3$ mg/dL sampai 2-3 kali kadar sebelumnya, atau jika kreatinin awal serum ≥ 4 mg/dL, atau jika sudah terjadi anuria.¹¹

Pemeriksaan radiologi

Tidak khas, bisa dijumpai gambaran pneumonia atau infiltrat di lobus bawah⁷

Pemeriksaan laboratorium⁹

Pemeriksaan laboratorium tergantung perjalanan penyakit dan berguna untuk diagnosis leptospirosis dini, jika gejala klinik tidak khas⁹ *Leptospira* berada dalam darah ± 7 hari setelah terjadinya infeksi, juga bisa ditemukan pada urin dan cairan otak ± 8 hari sampai beberapa minggu setelah infeksi. Jenis sampel untuk biakan leptospira adalah darah (yang diambil saat 10 hari sesudah demam), atau urin dan cairan spinal, yang harus diinokulasi ke dalam media, dalam 2 jam setelah pengambilan.^{3,7,18} Kultur urin biasanya positif sesudah minggu kedua sampai 30 hari sesudah infeksi.^{7,18} Titer antibodi dapat dideteksi kira-kira 10-14 hari sesudah serangan penyakit.^{9,12-15}

Pemeriksaan laboratorium rutin pada kasus leptospirosis adalah pemeriksaan darah lengkap, laju endap darah, urinalisis dan kimia darah. Pemeriksaan darah lengkap bisa dijumpai leukositosis dan LED meningkat. Pemeriksaan urinalisis bisa didapatkan proteinuria, pyuria dan hematuria mikroskopik.^{1,3,8,9,13}

Pada kasus ringan hasil tes fungsi hati ditemukan enzim transaminase normal atau sedikit meningkat, peningkatan bilirubin dan alkalifosfatase^{8,9,11}

Diagnosis pasti perlu pemeriksaan khusus **MAT (microscopic agglutination test), biakan atau PCR** dengan *probe* spesifik^{1,3,7,9}. Pemeriksaan laboratorium mikrobiologi spesifik dengan memeriksa sampel darah untuk melihat bakteri langsung dengan mikroskop lapangan gelap. Pemeriksaan serologis yang terbaik adalah MAT (microscopic agglutination test), yaitu reaksi aglutinasi secara mikroskopis dengan menggunakan mikroskop lapang gelap.^{14,15}

Prinsip pemeriksaan MAT adalah reaksi aglutinasi antara antibodi dalam serum penderita yang telah diencerkan secara serial dengan suspensi kuman *Leptospira* hidup yang sudah diketahui serovarnya, dicari aglutinasi 50% sebagai *end point* titernya. Untuk diagnosis diperlukan *paired sera* dengan peningkatan titer 4 kali lipat dalam rentang waktu 1-2 minggu^{9,15}. Pada daerah endemik titer serum tunggal $\geq 1 : 800$ disertai gejala klinis merupakan prediksi *Leptospira*. Spesifisitas MAT sangat tinggi 97-99%, sedangkan kelemahan MAT adalah kelengkapan panel serovar murni, teknik sulit dan selalu ada kemungkinan munculnya serovar baru yang belum diketahui.^{15,16}

Pemeriksaan ELISA untuk mendeteksi IgM *Leptospira* cukup sensitif dan efektif untuk mendeteksi antibodi IgM yang muncul pada akhir minggu pertama atau minggu kedua sesudah terserang penyakit. Pemeriksaan ELISA sensitivitasnya 89-98% dengan spesifisitas 90-92%, karena antigen yang digunakan pada pemeriksaan ELISA dimiliki

oleh semua genus *Leptospira*.¹⁷ Pemeriksaan ELISA tetap harus dikonfirmasi ulang dengan pemeriksaan MAT.¹⁴⁻¹⁷ Pemeriksaan **rapid immunochromatographic (ICT) test kualitatif untuk deteksi IgM dan IgG *Leptospira*** banyak digunakan sebagai skrining *Leptospira*.¹⁰ Silpasakom¹⁴ menyatakan bahwa tes ini mempunyai sensitivitas 39-72 % dan spesifisitas 91,8 %.^{10,17} Tes ini mudah, cepat (± 20 menit) dan memberi hasil cukup akurat^{10,17} akan tetapi tes ini hanya digunakan untuk skrining dan masih perlu dilakukan tes serologis lainnya untuk konfirmasi seperti MAT atau ELISA.¹⁰

Setiawan¹⁸ menyatakan bahwa pada penderita yang sudah didiagnosis *Leptospira* secara pasti ternyata yang menunjukkan hasil positif dengan biakan 48%, PCR 62% sedangkan pemeriksaan serologis 92%. Berbagai tes di atas mempunyai keunggulan dan kelemahan maka harus dievaluasi data klinik pasien dan perjalanan penyakitnya untuk menentukan pilihan tes yang akan digunakan¹⁸

Leptospira sensitif terhadap sebagian besar antibiotika, kecuali vankomisin, rifampisin dan metronidazol. Terapi antibiotika pilihan adalah Benzyl Penicillin, selain itu bisa diberikan golongan tetrasiklin, doksisisiklin, ampicillin atau amoksisilin dan golongan cephalosporin.³ Pengobatan dengan Benzyl Penicillin 6-8 MU intra vena dengan dosis terbagi selama 5-7 hari, atau Penicillin Procain 4-5 MU/hari kemudian dosis diturunkan menjadi setengahnya setelah demam hilang dengan lama pengobatan 5-6 hari.^{1-3,7,8} Ceftriakson dosis 1-2 gram IV selama 7 hari hasilnya sama baik dengan penicillin³

Semua kasus *Leptospira* ringan sembuh sempurna. *Leptospira* berat angka kematian tinggi 5-40%. Indikator prognosis mortalitas adalah usia >60 tahun, kadar kreatinin >10 mg/dL, kadar ureum > 200 mg/dL, kadar albumin serum <3 g/dL, kadar bilirubin >25 mg/dL, trombosit $<100.000/mm^3$. Hb <12 g/dl, disertai adanya komplikasi sesak

nafas, abnormalitas EKG dan adanya infiltrat alveolar juga dapat memperburuk prognosis.^{1,3}

ILUSTRASI KASUS

Tn M, 54 tahun, masuk IGD RSUP Fatmawati

Keluhan utama

Demam

Riwayat penyakit sekarang

Sejak beberapa hari sebelum masuk rumah sakit/ SMRS timbul demam. Buang air kecil warna pekat seperti teh disertai sakit kepala dan nyeri otot. Buang air besar berwarna hitam, tidak ada lendir ataupun darah. Pasien kemudian mengeluh tubuh dan mata menjadi kuning, silau dan nyeri otot betis, sehingga pasien sulit berjalan. Pasien ke IGD RSUP Fatmawati untuk dirawat.

Pasien bekerja sebagai petani dan buruh bangunan. Lokasi rumah di kebun, banyak tikus dan sering banjir.

PEMERIKSAAN FISIK (6/3-2012)

Keadaan umum(KU) : tampak sakit berat, compos mentis

Tensi 110/70 mmHg, nadi 80x/menit, respirasi 18 x/ menit, suhu 37,7 °C

Kulit **ikterik (+), konjungtiva anemis +/- sklera ikterik +/+, conjunctival suffusion(+)**

Pemeriksaan fisik jantung, paru dan abdomen tidakada kelainan.

Nyeri tekan Gastrocnemius +/-

Foto Thoraks : cor dalam batas normal, bronkitis post KP

Data Lab di IGD :

Ureum **338** mg/dL (20 - 40)

Kreatinin **10,3** mg/dL (0,5 - 1,5)

Pemeriksaan antibodi Leptospira

(rapid Immunochromatografi/ICT Leptospira)

Leptospira IgG : negatif

Leptospira IgM : **positif**

WD/ Leptospirosis +AKI (Weil's disease)

Terapi

- IVFD NaCl 0,9% 500 cc/ 12 jam
- Ceftriaxone 2x 2 gram inj IV
- Paracetamol 3 x 500 mg
- Transamin inj 500 mg, 2 x 1 amp (IV)
- Omeprazole 1x 40 mg IV

Produksi urin, 200-400 cc/hari (oliguria)

Monitoring jumlah, volume urin

harian/24 jam →HD cito

- HbsAg, anti HIV dan anti HCV pro HD

Hasil pemeriksaan laboratorium RSF

	Hasil	Satuan	Nilai rujukan
Hemoglobin	10,9	g/dL	(13,2- 17,3)
Hematokrit	34	%	(33,0 - 45,0)
Leukosit	22,9	10 ³ /uL	(5,0 - 10,0)
Trombosit	92	10 ³ /uL	(150.000-400.000)
Eritrosit	3,41	10 ⁶ / uL	(4.40-5.90)
VER	99,1		fl (80-100)
HER	32	pg	(26-34)
KHER	32,2	g/dL	(32-36)
RDW	14,5	%	(11.5-14.5)
Hitung jenis			
Basofil	1	%	(0-1)
Eosinofil	1	%	(1-3)
Neutrofil	81	%	(52-76)
(batang 4%, segmen 77 %)			
Limfosit	14	%	(20-40)
Monosit	3	%	(2-8)
LED	15,0	mm	(≤10,0)
Retikulosit	2,7	%	(N: 0,5-1.5 %)

Gambaran darah tepi

Kesan: Anemia Normositik Normokrom, leukositosis dengan neutrofilia dan trombositopenia

Ureum	338	mg/dL	(20 - 40)
Kreatinin	10,3	mg/dL	(0,5 - 1,5)
Natrium	141	mEq/L	(135 - 147)
Kalium	4,98	mEq/L	(3,1 - 5,1)
Klorida	100	mEq/L	(95 - 108)

Hemostasis : tak ada kelainan

Kimia darah

SGOT	27	U/L	(0-34)
SGPT	32	U/L	(0-40)
Bilirubin total	9,50	mg/dL	(0,10-1.00)
Bilirubin direk	7,20	mg/dL	<0,2
Bilirubin indirek	2,30	mg/dL	<0,6
Alkali pospatase	320	IU/L	(30 - 140 IU/L)
CHE	4986	U/L	(4.90011.900)
Protein total	6,20	g/dL	(6,00 - 8,00)
Albumin	3,4	g/dL	(3,40- 4,80)
Globulin	2,80	g/dL	(2,50 - 3,00)
CK	71	U/L	(≤ 175)
Amylase	47	U/L	(13-53)
Lipase	51	U/L	(6-51)
Feritin	310	ng/mL	(22-322)
Serum iron	96	mg/dL	(65-175)
TIBC	269	mg/dL	(253-435)

Serologi (pro HD)

HBsAg	negatif
Anti HIV	negatif
Anti HCV	negatif
Widal	negatif
Dengue:	
IgG dan IgM	negatif

Pemeriksaan feses rutin

Darah samar **positif**

Pemeriksaan antibodi Leptospira

(rapid Immunochromatografi/ICT Leptospira)

Leptospira IgG : negatif

Leptospira IgM : **positif**

Kesimpulan

Antibodi IgM Leptospira(+), peningkatan ureum dan kreatinin sesuai diagnosis suspek Leptospirosis dengan gangguan ginjal

Saran

monitoring ureum, kreatinin dan elektrolit, Microscopic Agglutination Test (MAT)

Tindakan

dilakukan hemodialisis, terapi diteruskan.

Setelah dirawat selama 7 hari dan dilakukan tindakan HD, kondisi membaik dan pasien dipulangkan untuk berobat jalan, dengan terapi Cefixime 2x200 mg/hari

Omeprazole 1x 20 mg po, Sucralfat 4x C1

PEMBAHASAN/DISKUSI

Pasien lelaki usia 54 tahun dirawat di RSUP Fatmawati sejak tanggal 6 Maret 2012 sampai dengan 13 Maret 2012 dengan keluhan demam yang didiagnosis suspek leptospirosis atau *Weil's disease* berdasarkan data klinik dan pemeriksaan laboratorium. Dari anamnesis diketahui bahwa pasien adalah buruh, risiko pekerjaan sering kontak dengan air, tinggal di lingkungan sering banjir, dekat saluran air, banyak tikus berkeliaran dan kurang higienis.

Pada pemeriksaan fisik didapatkan gejala klinik spesifik demam, ikterik dengan sklera ikterik, *conjunctival suffusion*, dan nyeri tekan gastrocnemius, mengarah pada kecurigaan klinis Leptospirosis. Pemeriksaan serologis *rapid test* dengan metode imunokromatografi (ICT) untuk deteksi antibodi IgM Leptospira didapatkan hasil positif. Pemeriksaan darah lengkap didapatkan anemia, leukositosis dengan netrofilia, dan trombositopenia yang bisa didapatkan pada Leptospirosis. Dijumpainya anemia normositik normokrom dengan retikulositosis, juga tes darah samar yang positif, mengarah pada anemi karena perdarahan yang kemungkinan terjadi karena adanya perdarahan saluran cerna atas (*stress ulcer*), atau melena yang sering dijumpai pada Leptospirosis. Pada kasus ini didapatkan peningkatan alkali pospatase tetapi tidak didapatkan peningkatan enzim transaminase, choline esterase, creatinin kinase

ataupun amilase dan lipase. Dijumpainya ikterik, manifestasi perdarahan, dan peningkatan bermakna ureum dan kreatinin mengarah pada terjadinya gangguan ginjal akut pada Leptospirosis yang biasa disebut sebagai *Weil's disease*.

Diagnosis ditegakkan berdasarkan anamnesis pekerjaan atau kontak erat dengan air terkontaminasi, gejala klinik, pemeriksaan fisik khas dan pemeriksaan laboratorium.

Diagnosis Leptospirosis dapat dibagi menjadi 2 klasifikasi yaitu **suspek/ probable /presumtif** dan **diagnosis definitif**. **Diagnosis probable atau suspek** jika didapatkan gejala klinis khas atau sesuai leptospirosis dan hasil tes serologi penyaring seperti tes ICT yang positif. **Diagnosis pasti** Leptospirosis ditegakkan dengan ditemukan Leptospira dari **biakan**, atau adanya gejala klinis leptospirosis dengan uji serologis positif yaitu **uji MAT serial**, yang menunjukkan adanya serokonversi atau peningkatan titer 4 kali atau lebih, atau pemeriksaan IgM Elisa positif.

Pada kasus ini tidak dilakukan pemeriksaan biakan atau isolasi leptospira ataupun pemeriksaan MAT, karena teknis sulit, data klinis sudah sangat mendukung kearah Leptospirosis dan pemeriksaan laboratorium tes rapid ICT Leptospira IgM sebagai tes skrining juga memberikan hasil positif. Selain itu respon terhadap terapi dan penanganan Leptospirosis juga cukup baik.

Guideline WHO menyatakan bahwa pemeriksaan laboratorium rapid ICT Leptospira IgM tidak bisa digunakan sebagai dukungan diagnosis definitif Leptospirosis karena sifatnya hanya **skrining** dan harus dilakukan tes konfirmasi lebih lanjut. Hanya saja pemeriksaan ini mahal, teknis sulit, membutuhkan tenaga khusus yang terlatih, dan baru dikerjakan oleh laboratorium tertentu saja, sehingga belum memungkinkan diadakan di RS Fatmawati. Tes konfirmasi sebaiknya memang perlu dilakukan pada kasus yang jika setelah mendapat terapi yang adekuat, tidak mendapatkan respon klinik yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Human Leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. Geneva : International Leptospirosis Society ; 2003. p.1-95
2. Kusmiyati, Susan MN, Supar. Leptospirosis pada hewan dan manusia di Indonesia. *Wartazoa* 2005;15(4): 213-20
3. Karande S, Bhatt M, Kelkar A, Kulkarni M, DeA, Varaiya A. An Observational study to detect leptospirosis in Mumbai, India, 2000. *Arch Dis Child* 2003 ; 88 : 1070 - 5
4. Soeroro S, Giriputro S, Pulungsih SP, Soetanto T, Ningsih S, Sulastri S, et al. Pedoman tata laksana kasus dan pemeriksaan laboratorium Leptospirosis di rumah sakit. Jakarta: Departemen Kesehatan ; 2003. hal 1-45
5. Levett, P.N. Leptospirosis. *Clin Microbiol.* 2001. Rev.14 : 296 -326
6. Zein U. Leptospirosis. Dalam: Sudoyo AW, Setiobudi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S ed . *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam* jilid III. edisi V. Jakarta : Internal Published; 2009. Hal 2807-11
7. Faine S. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva: WHO; 1982 .p. 17-79.
8. Rejeki DSS. Faktor risiko lingkungan yang berpengaruh terhadap kejadian leptospirosis berat (tesis). Semarang: Universitas Diponegoro; 2005.
9. Setiawan IM. Pemeriksaan Laboratorium untuk mendiagnosis penyakit leptospirosis. *Media Litbangkes.* 2008; XVIII(1) : 44-52.
10. Gasem, MH. Gambaran Klinik dan diagnosis leptospirosis pada manusia. Dalam: Riyanto B, Gasem MH, Sofro MAU editor: *Kumpulan makalah simposium leptospirosis.* Cetakan pertama. Semarang: Badan penerbit Universitas Diponegoro; 2003.
11. Sanford J.P, Leptospirosis, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 13th ed ,Mc Graw Hill, New York; 2002. p.740-3
12. Blacksell SD, Smythe L, Phetsouvanh R, Dohnt M, Hartskeerl R, Symonds M, et al. Limited diagnostic capacities of two commercial assay for the detection of leptospira immunoglobulin M antibodies in Laos. *Clin Vaccine Immunol* 2006; 13 (10) : 1166-69
13. Anonymous. SD Leptospira IgG/ IgM. Hagaldong: Standard Diagnostik; 2009 : 1-2
14. Silpasakom S, Waywa D, Hoontrakul S, Suttinont C, Losuwanaluk K, Suputtamongkol Y. Performance of Leptospira Immunoglobulin M ELISA and Rapid Immunoglobulin G Immunochromatographic assay for the diagnosis of Leptospirosis. *J Med Assoc Thai* 2011 ; 94 (Suppl.1) : S 203-6
15. Effler PV, Bogard AK, Domen HY, Aye T, Sasaki DM. Evaluation of eight rapid screening test for acute leptospirosis in Hawaii. *J Clin Microbiol*, 2002 ; 40 : 1464-9
16. Honarmand HR, Abdollahpour G, Eshraghi SS. Comparison of two ELISA Methods for the Laboratory Diagnosis of acute Leptospirosis. *Iran J Med Sci* 2010 ; 35 (2): 116-121
17. Romero EC, Bernardo CCM, Yasuda PH. Human Leptospirosis: A twenty nine year serological study in Sao Paulo Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo*; 2003; 45: 245-8
18. Setiawan IM. Pemeriksaan Enzyme Linked immunosorbent assay (ELISA) untuk diagnosis Leptospirosis. *Ebers Papyrus* 2007 13(3) : 125-36