

# KEGAGALAN KEHAMILAN AKIBAT INFEKSI *Toxoplasma gondii* GALUR RH DIPICU OLEH OVERPRODUKSI INTERFERON GAMMA (IFN $\gamma$ )

## PREGNANCY FAILURE IN RH STRAIN OF *Toxoplasma gondii* INFECTION IS INDUCED BY OVERPRODUCTION OF INTERFERON GAMMA (IFN $\gamma$ )

Teguh Wahyu Sardjono

Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Unibraw Malang

### ABSTRACT

*It has been already known that transplacental infiltration of parasites occurred during Toxoplasma infection in pregnancy; but pregnancy failures may due to some other previous mechanisms. Eighty BALB/c female mice were monogamously mated than divided into three pairs of study groups and a pair of control group. On Day 9<sup>th</sup> post mating, three pairs of study groups were intra-peritoneally infected by 10, 50 and 100 tachyzoites of RH strain Toxoplasma gondii, and the control groups were injected by PBS. Effect of treatment on the plasma level of IFN $\gamma$  (ELISA) and number of litters were evaluated on the day 12<sup>th</sup> and day 15<sup>th</sup>-16<sup>th</sup>, represented second and third period of pregnancy. ANOVA and Path Analysis showed that duration of infection and the increase of plasma IFN $\gamma$  level decreased number of litters with coefficients of path of (-0,269; p=0,005) and (-0,377; p= 0,002) respectively. Decreasing number of litters was due to IFN $\gamma$  overproduction, as response against RH strain of Toxoplasma gondii infection. This study showed that pregnancy failure in Toxoplasma infection is more due to indirect immuno-biochemical aspects rather than direct parasitological aspect. More studies to explain the basic molecular and immunological mechanisms of pregnancy failure in toxoplasmosis are still needed.*

**Key words:** Toxoplasmosis, IFN $\gamma$ -overproduction, pregnancy failure

### PENDAHULUAN

Telah diketahui bahwa pada lebih kurang sepertiga dari kasus infeksi *Toxoplasma gondii* pada wanita hamil, terjadi infiltrasi parasit melalui plasenta dan menyebabkan berbagai jenis gangguan kehamilan (1,2,3). Namun demikian kegagalan kehamilan mungkin sudah terjadi melalui mekanisme sebelum adanya infiltrasi parasit tersebut (4).

Kehamilan adalah suatu fenomena fisiologik di mana janin yang secara imunologik merupakan benda asing, dapat hidup di dalam kandungan ibu sepanjang masa kehamilan. Kegagalan kehamilan pada hakekatnya adalah reaksi penolakan janin yang terjadi lebih dini dari kondisi normal (2,5,6). Berbagai manifestasi kegagalan kehamilan pada umumnya terjadi pada fase pasca implantasi, dan abortus merupakan manifestasi yang paling sering terjadi, yaitu sekitar 10% (7,8).

Pada kehamilan normal, peran dan keseimbangan produksi dan interaksi antara berbagai jenis sitokin, baik yang bersifat pro-inflamasi (Th1) maupun anti-inflamasi (Th2), sangat menentukan keberhasilan dan kelangsungan kehamilan (9,10). Pada fase implantasi, sitokin-sitokin Th1

seperti IFN $\gamma$  dan IL2 secara dominan mengendalikan proses angiogenesis dan invasi sel-sel trofoblas. Segera setelah implantasi selesai, terjadi pergeseran dominasi dari Th1 ke Th2. Bila proses pergeseran ini tidak terjadi dan dominasi Th1 tidak terkendali, maka Th1 justru memicu terjadinya kegagalan kehamilan (3,11,12,13). Infeksi yang terjadi selama kehamilan, khususnya oleh parasit intraseluler, merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi respon kekebalan. Pengamatan yang dilakukan oleh Krishnan menunjukkan bahwa infeksi *Leishmania major* pada mencit bunting menyebabkan produksi IL-4 dan IL-10 di plasenta menurun, sedang produksi IFN $\gamma$  dan TNF meningkat (14). Sitokin yang diproduksi di mana saja, dapat mengalir ke plasenta dan mempengaruhi rangkaian sitokin lokal (14). Percobaan pada mencit yang diinfeksi oleh *Toxoplasma gondii* menunjukkan bahwa pada infeksi akut, sel-sel dendritik, neutrofil dan makrofag bereaksi langsung terhadap antigen parasit dengan memproduksi IL-12, TNF $\alpha$  dan IFN $\gamma$  (15,16). Sitokin-sitokin Th1 yang diinduksi oleh infeksi dapat melintasi *fetal interface*, mempengaruhi trofoblas dan kehamilan. Terjadinya peningkatan respon Th1 sistemik ini dapat menimbulkan gangguan terhadap kehamilan (9,10,14). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa infeksi *Toxoplasma gondii* galur RH pada mencit BALB/c bunting menyebabkan penurunan jumlah janin melalui peningkatan kadar IFN- $\gamma$ .

*Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XXI, No.3, Desember 2005*  
Korespondensi: Teguh Wahyu Sardjono; Laboratorium  
Parasitologi Fakultas Kedokteran Unibraw; Jl. Veteran  
Malang 65145; Telp. (0341) 580993 ext. 124

## METODE

Setelah sinkronisasi oestrus dengan memanfaatkan fenomena *Lee Boot effect*, *Whitten effect* dan *Pheromone effect*, delapan puluh ekor mencit betina galur *BALB/c*, umur 4-6 bulan sehat, berasal dari hasil pembiakan *inbred* di Laboratorium Pusvetma Wonocolo Surabaya, berat badan 25-40 gram dan baru melahirkan anak, dikawinkan secara monogami dan serempak lalu dibagi menjadi menjadi 4 kelompok. Pada hari ke-9 pasca kawin (p.k), 3 kelompok diantaranya diinfeksi dengan *Toxoplasma gondii* galur *RH* masing-masing dengan dosis 10, 50 dan 100 takhizoit dan 1 kelompok diinjeksi dengan PBS sebagai kontrol. Inokulan takhizoit *Toxoplasma gondii* galur *RH*, diperoleh dari hasil panen yang dilakukan pada hari ke-4 dari inokulasi pertama pada mencit dengan stabilat *Toxoplasma gondii* galur *RH* yang diperoleh dari Laboratorium Bioteknologi Pusat Antar Universitas (PAU-Biotek UGM). Pengaruh perlakuan diamati pada hari 12 dan hari 15-16 p.k., masing-masing mewakili periode 2 dan 3 dari kebuntingan. Jumlah takhizoit dalam bilasan cairan peritoneum dihitung di bawah mikroskop pada kamar hitung Neubauer. Kadar IFN $\gamma$  plasma diukur dengan metoda ELISA. Hasil kehamilan diukur dengan menghitung jumlah lobus embrio dan sisa janin pada kedua cornu uterus. Hubungan antar variabel dosis dan waktu inokulasi, jumlah takhizoit dalam cairan peritoneum, kadar IFN $\gamma$  plasma dan jumlah janin dianalisis menggunakan ANOVA dan analisis jalur (*Path Analysis*), dengan perangkat lunak SPSS-10 dan AMOS GRAFIK -4.

## HASIL PENELITIAN

Masing-masing variabel yang diamati, yaitu jumlah janin, jumlah takhizoit dalam cairan peritoneum dan kadar IFN $\gamma$  plasma ditunjukkan pada tabel dan gambar grafik di bawah ini.

Pada Tabel 1 tampak bahwa pada periode-2 belum terdapat perbedaan jumlah janin antara kelompok mencit yang diinfeksi dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $p > 0,05$ ). Perbedaan jumlah janin antar kelompok baru terlihat bermakna pada periode-3 ( $p = 0,032$  ANOVA), akan tetapi ternyata perbedaan yang bermakna tersebut hanya terdapat pada kelompok mencit yang diinfeksi dengan dosis 100 takhizoit dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $p = 0,024$ , *Post Hoc ANOVA*).

Pada Tabel 2 tampak bahwa pada periode-2 sudah terdapat perbedaan jumlah takhizoit dalam cairan peritoneum yang bermakna antara kelompok mencit yang diinfeksi dengan 10, 50 dan 100 takhizoit dibandingkan dengan kontrol ( $p = 0,00$ ). Ada perbedaan bermakna antara jumlah rata-rata takhizoit bila kelompok dosis 10 dibandingkan dengan kelompok dosis 50 dan 100 ( $p = 0,00$ ), tetapi antara kelompok dosis 50 dan 100 perbedaan tersebut tidak bermakna ( $p = 0,098$ , *Post Hoc Test*). Pada

periode 3 (*Post Hoc Tes*) jumlah takhizoit kelompok dosis 10 tetap berbeda bermakna bila dibandingkan kelompok dosis 50 dan 100 ( $p = 0,000$ ), tetapi tidak bermakna bila dibandingkan kelompok kontrol ( $p = 0,142$ ), sedang perbedaan jumlah takhizoit antara kelompok dosis 50 dan 100 takhizoit tetap tidak bermakna ( $p = 0,055$ ).

Pada Tabel 3 tampak bahwa pada periode-2 kadar IFN- $\gamma$  dalam plasma mencit pada masing-masing kelompok dosis belum menunjukkan perbedaan yang bermakna, baik pada analisis ANOVA ( $p = 0,266$ ), maupun *Post Hoc Test* ( $p > 0,05$ ). Peningkatan kadar IFN- $\gamma$  di dalam plasma mencit pada masing-masing kelompok dosis terlihat nyata setelah periode-3 ( $p = 0,000$  *Oneway ANOVA*). Pada periode3 (*Post Hoc Test*), kadar rata-rata IFN- $\gamma$  di dalam plasma mencit bunting pada kelompok kontrol berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok dosis 10 ( $p = 0,046$ ), maupun dengan kelompok dosis 50 dan dosis 100 ( $p = 0,00$ ). Perbedaan bermakna juga ditemukan pada perbandingan antara kelompok dosis 10 dengan dosis 50 ( $p = 0,008$ ), tetapi tidak dengan dosis 50 dan 100 takhizoit ( $p = 0,998$ ). Kadar rata-rata IFN- $\gamma$  plasma pada kelompok mencit yang diinfeksi *Toxo-plasma gondii* dengan dosis 50 takhizoit ( $3,2118 \pm 0,1255$  ng/ml) justru lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok dosis 100 takhizoit ( $3,0806 \pm 0,2439$  ng/ml).

Selanjutnya analisis jalur hubungan antar variabel yang diukur dapat dilihat pada Gambar 1.

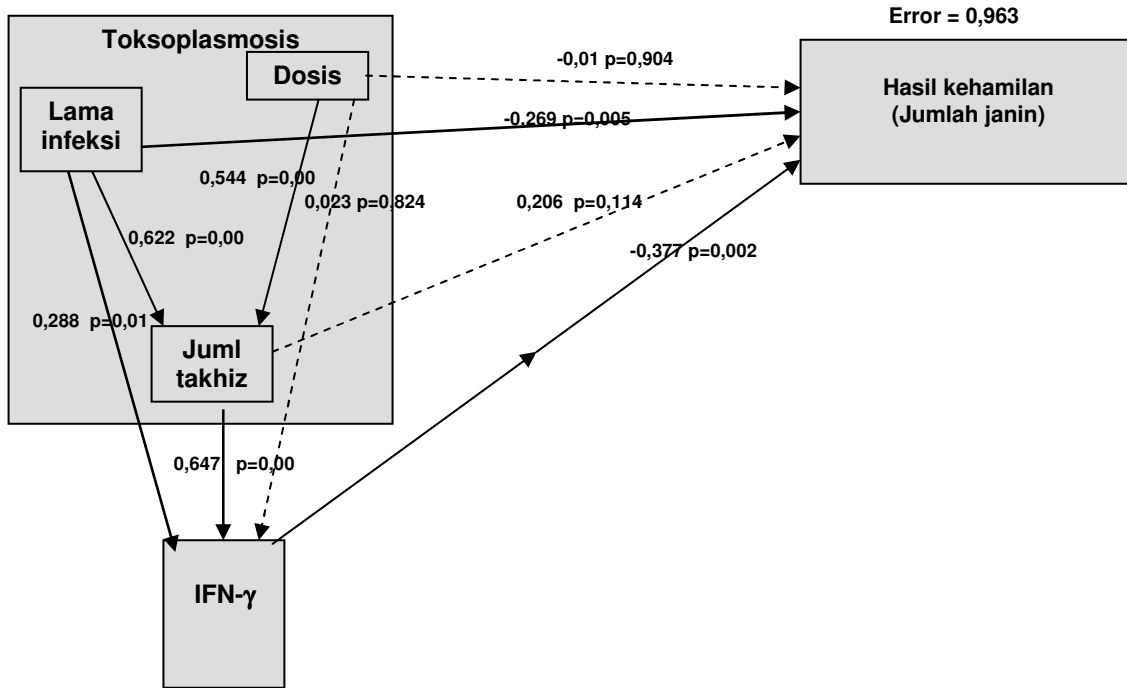
**Tabel 1. Jumlah janin rata-rata tiap kelompok mencit dan p-value Post Hoc ANOVA test**

kelompok	Periode 2 (rerata $\pm$ 1SD)	Periode 3 (rerata $\pm$ 1SD)
Kontrol	10,33 $\pm$ 2,31 $p = 1,000^*$	10,40 $\pm$ 1,52 $p = 1,000^*$
Dosis 10	12,00 $\pm$ 2,31 $p = 0,865^*$	8,00 $\pm$ 1,76 $p = 0,592^*$
Dosis 50	12,50 $\pm$ 0,58 $p = 0,75^*$	7,33 $\pm$ 4,93 $p = 0,473^*$
Dosis 100	9,00 $\pm$ 3,90 $p = 0,907^*$ $p = 0,246^{**}$	4,32 $\pm$ 4,48 $p = 0,024^*$ $p = 0,032^{**}$

\*) *p-value* dibandingkan dengan kontrol (*Post Hoc*)  
\*\*) *p-value* antar kelompok (*Oneway ANOVA*)

**Tabel 2. Jumlah takhizoit rata-rata ( $\times 10^4/\mu\text{m}^3$ ) pada tiap kelompok dan p-value F test**

Kelompok	Periode 2 (rerata $\pm$ 1SD)	Periode 3 (rerata $\pm$ 1SD)
Kontrol	0,00 $\pm$ 0,00 $p = 1,000^*$	0,00 $\pm$ 0,00 $p = 1,000^*$
Dosis 10	0,625 $\pm$ 0,144 $p = 0,00^*$	1882,25 $\pm$ 1859,61 $p = 0,142^*$
Dosis 50	1,375 $\pm$ 0,144 $p = 0,00^*$	5725,00 $\pm$ 1246,80 $p = 0,00^*$
Dosis 100	1,583 $\pm$ 0,129 $p = 0,00^*$ $p = 0,000^{**}$	7975,00 $\pm$ 1701,57 $p = 0,00^*$ $p = 0,000^{**}$



**Gambar 1. Analisis Jalur Pengaruh Toksoplasmosis terhadap Jumlah Janin**

Toksoplasmosis” mengandung dua variabel yaitu dosis dan lama infeksi, yang masing-masing diperlakukan sebagai variabel bebas. Koefisien path (*r*), menunjukkan besarnya pengaruh antar variabel; nilai p menunjukkan kemaknaan. Pengaruh antar variabel bermakna bila  $p \leq 0,05$ . Pada Gambar 1 nampak bahwa jumlah janin lebih dipengaruhi oleh lamanya infeksi (-0,269;  $p=0,005$ ) dibanding oleh dosis inokulasi (0,01;  $p = 0,904$ ). Jumlah takhizoit lebih dipengaruhi lama infeksi dibanding dosis infeksi (0,622;  $p=0,00$  vs 0,544;  $p=0,00$ ). Kadar IFN  $\gamma$  juga lebih dipengaruhi lama infeksi (0,288;  $p=0,01$  vs 0,023;  $p=0,824$ ). Tidak ada pengaruh langsung antara jumlah takhizoit dengan jumlah janin (0,206;  $p=0,114$ ). Peningkatan kadar IFN $\gamma$  menyebabkan penurunan jumlah janin (-0,377;  $p=0,002$ ). Error dari berbagai faktor yang berpengaruh terhadap jumlah janin = 0,963.

**Tabel 3. Kadar IFN- $\gamma$  rata-rata (ng/ml) tiap kelompok dan p-value Post Hoc ANOVA test**

Kelompok	Periode 2 (rerata $\pm$ 1SD)	Periode 3 (rerata $\pm$ 1SD)
Kontrol	0,2357 $\pm$ 0,0033 $p = 1,000^*$	0,3416 $\pm$ 0,0591 $p = 1,000^*$
Dosis 10	0,1481 $\pm$ 0,0541 $p = 0,284^*$	1,6489 $\pm$ 1,4061 $p = 0,046^*$
Dosis 50	0,1734 $\pm$ 0,0129 $p = 0,559^*$	3,2118 $\pm$ 0,1255 $p = 0,000^*$
Dosis 100	0,1532 $\pm$ 0,0886 $p = 0,272^*$	3,0806 $\pm$ 0,2439 $p = 0,000^*$
	$p = 0,266^{**}$	$p = 0,000^{**}$

**DISKUSI**

Proses patologik yang terjadi dalam tubuh hospes pada setiap kejadian infeksi tidak lepas dari kaidah interaksi antara inang dan parasit (*host parasite relationship*), demikian pula halnya pada infeksi *Toxoplasma gondii* (17,18).

Telah dikenal berbagai galur *Toxoplasma gondii*, yang berdasarkan virulensinya dibagi menjadi 3 tingkat, yaitu yang tingkat virulensinya rendah atau non virulen, sedang dan tinggi atau sangat virulen. Selain faktor genetik, faktor-faktor yang menentukan tingkat virulensi dari *Toxoplasma gondii* belum diketahui dengan pasti, tetapi yang jelas virulensi erat hubungannya dengan daya multiplikasi parasit di dalam sel tubuh hospes, derajat parasitemia dan kecepatan terjadinya kematian pada mencit percobaan (19,20). Keseimbangan antara kecepatan multiplikasi *Toxoplasma gondii* dengan kemampuan makrofag untuk mengatasi, menentukan derajat dan manifestasi patologik yang terjadi (21,22).

Pada penelitian ini terjadi penurunan jumlah janin pada kelompok mencit yang diinfeksi *Toxoplasma gondii*, yang baru terlihat pada pengamatan di periode 3, dan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol ternyata tidak bermakna ( $p>0,05$ ) (Tabel 1). Juga didapatkan peningkatan jumlah takhizoit di dalam rongga peritoneum secara bermakna, baik pada periode 2 maupun periode 3 (Tabel 2),

dan peningkatan kadar IFN $\gamma$  plasma pada masing-masing kelompok mencit yang baru terlihat bermakna ( $p < 0,05$ ) setelah periode 3 (Tabel 3). Analisis jalur pada penelitian ini (Gambar 1) menunjukkan bahwa peningkatan jumlah takhizoit di dalam rongga peritonenum kurang berpengaruh pada kegagalan kehamilan ( $r = 0,206$ ;  $p = 0,114$ ). Terjadinya kegagalan kehamilan akibat infeksi *Toxoplasma gondii* lebih dipengaruhi oleh mekanisme imuno-biokimiawi melalui peningkatan kadar IFN $\gamma$  plasma, dibanding melalui mekanisme langsung oleh parasitnya. Hal ini sesuai dengan hasil beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa pada gangguan kehamilan akibat infeksi *Toxoplasma*, tidak mutlak diperlukan keberadaan parasit di plasenta (4,23,24).

Bahwa pada kehamilan normal, setelah tahap implantasi dominasi sitokin-sitokin Th2 sangat diperlukan untuk menjamin kelangsungan kehamilan. IFN $\gamma$  adalah sitokin Th1 yang merupakan mediator utama dalam proses penanggulangan infeksi, termasuk *Toxoplasma* (25). Infeksi *Toxoplasma gondii* yang terjadi pada kehamilan menimbulkan masalah yang dilematis bagi penderita. Bila sistem kekebalan maternal berusaha menanggulangi infeksi melalui respon Th1, hal ini dapat membahayakan bagi bayi yang dikandungnya. Sebaliknya, bila respon imun berusaha mengamankan bayinya melalui dominasi Th2, berarti seolah-olah tubuh memberi kesempatan kepada parasit yang menginfeksi untuk tetap hidup dan berkembang (26).

Pada penelitian ini nampak bahwa pada infeksi *Toxoplasma gondii* galur RH, kadar IFN- $\gamma$  plasma meningkat, tetapi pengaruh lama infeksi terlihat lebih besar dibanding dosis infeksi. Kadar IFN $\gamma$  plasma meningkat sangat bermakna setelah infeksi berlangsung lebih lama, yaitu pada periode-3 (Tabel 3). Bila dibandingkan dengan kelompok kontrol, kadar IFN $\gamma$  pada kelompok dosis 10 takhizoit hanya meningkat sekitar 4 kali lipat, tetapi pada kelompok dosis 50 dan 100 takhizoit peningkatan kadar IFN $\gamma$  tersebut hampir mencapai 10 kali lipat. Pada analisis

jalur (Gambar 1) nampak bahwa kenaikan jumlah takhizoit meningkatkan kadar IFN- $\gamma$  plasma (0,647;  $p = 0,00$ ). Pengaruh lama infeksi terhadap kenaikan kadar IFN- $\gamma$  plasma cukup bermakna (0,288;  $p = 0,01$ ), tetapi pengaruh peningkatan dosis infeksi terhadap kadar IFN $\gamma$  plasma tidak bermakna (0,023;  $p = 0,824$ ). Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Mordue bahwa pada infeksi akut dari *Toxoplasma gondii* galur virulen (RH), terjadi overproduksi sitokin-sitokin Th1, yang memicu berbagai proses patologik bahkan menimbulkan kematian hospes (16). Untunglah bahwa ternyata sekitar 70% *Toxoplasma gondii* yang menginfeksi hewan dan manusia pada populasi umum adalah berasal dari galur type II atau galur yang non virulen (2,20). Hal inilah yang mungkin menyebabkan bahwa walaupun prevalensi toksoplasmosis di masyarakat secara serologik cukup tinggi, namun hampir tidak ada perbedaan resiko antara kelompok wanita hamil yang terinfeksi dengan yang tidak terinfeksi (24,27,28). Hal ini diperkuat dengan nilai eror yang besar (0,963), yang menunjukkan bahwa masih sangat banyak faktor atau lain yang tidak dikaji dalam penelitian ini yang dapat menyebabkan gangguan kehamilan.

## KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Kegagalan kehamilan akibat infeksi *Toxoplasma gondii* dipengaruhi oleh virulensi parasit yang menginfeksi, saat dan lama terjadinya infeksi, serta peningkatan kadar IFN $\gamma$
2. Kegagalan kehamilan tersebut terjadi melalui mekanisme imuno-biokimiawi yang mendahului infiltrasi parasit ke jaringan plasenta.
3. Banyak faktor dan mekanisme lain yang perlu kajian lebih jauh dan dapat menyebabkan gangguan kehamilan.

## DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Kasper LH. *Toxoplasma Infection*. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL and Jameson JL. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 15<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill. New York: Medical Publishing Division; 2001; 1222-1227.
2. Cunningham FG, McDonald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LC, Hankins GDV and Clark SL. *Williams Obstetrics 20<sup>th</sup> ed*. USA, Stamford: Prentice Hall International Inc; 1997; 69 – 93, 95-123, 579-605, 1309-1311.
3. Dupouy-Camet J. *Immunopathogenesis of toxoplasmosis in pregnancy*. 1997. <http://www.users.limaginet.fr/@dipouya/toxoplasmosis.html>. Accessed 23 Oct. 2003.
4. Owen MR, Clarkson MJ, Trees AJ. *Acute phase Toxoplasma Abortions in sheep*. *Vet Rec* 1998; 142 (18): 480-482.
5. Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ. *Implantation and the Survival of Early Pregnancy*. *N Engl J Med* 2001; 345:1400-1408
6. Lewis A. *Why isn't Foetus Rejected? A Study of The Changes that Occur in the Mammalian Immune System, to Allow for Successful Pregnancy*. Available in. [www.stanupgirl.com](http://www.stanupgirl.com). Last updated on 13 January 2004.
7. Everet C. *Incidence and Outcome of bleeding before the 20<sup>th</sup> week pregnancy: Prospective Study from General Practice*. *British Medical Journal* 1997; 315: 32-34.

8. Laboratorium Obstetri Ginekologi RSUD dr Saiful Anwar Malang. *Laporan Tahunan Data Persalinan dan kunjungan Poliklinik tahun 1995 – 1997*. RSSA.1998:
9. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. *Bidirectional Cytokine Interactions in The Maternal-Fetal Relationship in Successful Pregnancy, a Th-2 phenomenon?*. Immunology Today. 1996; 993; 14: 353-356.
10. Guilbert LJ. *There is a Bias Against Type 1 (inflammatory) Cytokine Expression and Function in Pregnancy*. J. Reprod.Immunol 1996; 32(2): 105 -110.
11. Stemmer SM. *Three Months in Review. Current Progress in Early Pregnancy Investigation*. Early Pregnancy: Biology and Medicine; 2000; IV(1): 214-218.
12. Coulam CB. *Understanding The Immunobiology of Pregnancy and Applying It to Treatment of Recurrent Pregnancy Loss*. Early Pregnancy: Biology and Medicine; 2000; IV (1): 19-29.
13. Mor M and Abrahams VM. *Potential Role of Macrophages as Immuno-Regulators of Pregnancy*. Reproduc-tive Biology and Endocrinology. 2003;1:119
14. Khrihan L, Guilbert LJ, Wegmann TG, Belosevic M and Mosmana TR. In. Ragupathy R. *Th1-type immunity is Incompatible with Successful Pregnancy*. Immunology Today. 1997; 18(10): 478-482.
15. Denney CF, Eckmann L, Reed SL. *Chemokine Secretion of Human Cells in Response to Toxoplasma gondii infection*. Infect. Immun. 1999; 67(4):1547-1552.
16. Mordue DG, Monroy F, Regina ML, Dinarello CA and Sibley LD. *Acute Toxoplasmosis Leads to Lethal Overproduction of Th1 Cytokines*. J of Immunol. 2001;167: 4574-4584
17. Stites DP, Terr AI, Parslow TG. *Medical Immunology 9<sup>th</sup> ed*. Appleton & Lange. Stanford California. 1997
18. Baratawidjaja KG. *Imunologi Dasar*. Edisi ke 5. Jakarta: Balai Penerbit Universitas Indonesia. 2002.
19. Sibley LD and Howe DK. Genetic Basis of Pathogenicity in Toxoplasmosis. In: Gross U. *Toxoplasma gondii: Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer-Verlag. Berlin. 1996; 3-16.
20. Dardé ML, Biodiversity in *Toxoplasma gondii*. In: Gross U. *Toxoplasma gondii: Current Topics in Microbiology and Immunology*. Berlin: Springer-Verlag; 1996; 27-44.
21. Fatoohi AF, Cozon GJ, Greenland T, Ferrandiz J, Bienvenu J, Picot S, Peyron F. *Cellular immune responses to recombinant antigens in pregnant women chronically infected with Toxoplasma gondii*. Clin Diagn Lab Immunol. 2002; 9(3): 704-707.
22. Nischik N, Schade B, Dytnerka K, Diuganska H, Reichman G, Fischer H. *Attenuation of mouse-virulent Toxoplasma gondii Parasites is Associated with Decrease in interleukin-12-inducing tachyzoite activity and reduced expression of actin catalase and excretory proteins* Microbes Infect. 2001; 3: 689-699.
23. Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, Racinet C, Grefenstete I, Bost-Bru C, Goullier-Fleuret A, Ambriose-Thomas P. *Detection of Toxoplasma gondii in 94 Placentae from Infected Women by Polymerase Chain Reaction, in Vivo and in-vitro Cultures*. Placentae; 1998 19(7): 545-9.
24. Sardjono TW, Aulanni'am, Achmad Hidayat, Irfan M. *Keberadaan Toxoplasma gondii di Jaringan Plasenta Dideteksi dengan Teknik PCR dan Hubungannya dengan Cacat Bawaan*. Maj. Kedokt. Trop. Indon. 2000; 11(1): 6-16.
25. Suzuki Y, Orellana MA, Schreiber RD, Remington JS. *Interferon- $\gamma$ , the Major Mediator of Resistance Against Toxoplasma gondii*. Science 1988; 240: 516-518.
26. Ragupathy R. *Th1-Type Immunity is Incompatible with Successful Pregnancy*. Immunology Today 1997; 18(10): 478-482.
27. Sardjono TW, Soewarto S, Mudjiwiyono, Muhammad L. *The Evidence of Toxoplasmosis in Spontaneous Abortion Cases in Dr. Saiful Anwar Hospital Detected by Serological, histopatological and PCR Analyses*. Maj.Kedokt.Unibraw 2002; XVIII(2): 77-82.
28. Suryawan A, Masengi-Rumopa JA, Tuda JSB. *Toxoplasma gondii Identification in Spontaneous Abortion with nested PCR*. Kongres Nasional XI PETRI dan Kongres Nasional VI PKWI. Agustus 2003, Manado.

