

593.19

Amb

d e



**DETEKSI ANTIGEN TOKSOPLASMA
DENGAN TEKNIK IMUNOHISTOKIMIA
PADA ABORTUS SPONTAN**

EDIWIBOWO AMBARI

TESIS

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2003**

IPD-PUSTAK WISATA

UPT-PUSTAK-UNDIP
No. Daft: 1910/T/FK/e/...
Tgl. : 16/8 03

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : **DETEKSI ANTIGEN TOKSOPLASMA DENGAN
TEKNIK IMUNOHISTOKIMIA PADA ABORTUS
SPONTAN**

Ruang Lingkup : Obstetri Ginekologi

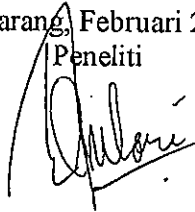
Pelaksana penelitian

Nama : Ediwibowo Ambari

NIM : G3D098029

Pembimbing : Prof. Dr. Ariawan Soejoenoes, SpOG-KFM.
Dr. Bambang Wibowo, SpOG.

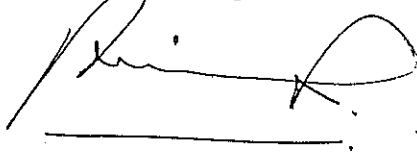
Semarang, Februari 2003
Peneliti



Ediwibowo Ambari
NIP 140346024

Disetujui oleh

Pembimbing I



Prof. Dr. Ariawan Soejoenoes, SpOG-KFM
NIP 130177746

Pembimbing II



Dr. Bambang Wibowo, SpOG
NIP 140221586

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : **DETEKSI ANTIGEN TOKSOPLASMA DENGAN
TEKNIK IMUNOHISTOKIMIA PADA ABORTUS
SPONTAN**

Ruang Lingkup : Obstetri Ginekologi

Pelaksana penelitian
Nama : Ediwibowo Ambari
NIM : G3D098029
Pembimbing : Prof. Dr. Ariawan Soejoenoes, SpOG-KFM
Dr. Bambang Wibowo, SpOG.

Hasil penelitian ini merupakan milik :

Bagian / SMF Obstetri Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Kariadi
Semarang

Telah diajukan dan disetujui

Semarang, Februari 2003

Ketua Bagian/SMF Obstetri dan Ginekologi

KPS PPDS I Obstetri dan Ginekologi

FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi

FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi

Semarang

Semarang


Prof. dr. Noor Pramono, MMed.Sc. SpOG-KFER


dr. Supriyono K, SpOG-Konk

NIP. 130 345 800

NIP. 140 090 806

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayahNya tesis dengan judul “ Deteksi antigen toksoplasma dengan teknik imunohistokimia pada abortus spontan” dapat terselesaikan.

Tesis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Atas segala dorongan, bimbingan, serta bantuan dalam menyusun tesis ini, dengan tulus dan rasa hormat saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Noor Pramono, Mmed.Sc, SpOG-KFER atas pengarahan dan motivasi yang telah diberikan serta selaku Ketua Bagian / SMF Obstetri Ginekologi FK UNDIP/ RSUP Dr. Kariadi Semarang.
2. Prof.Dr. Ariawan Soejoenoes, SpOG-KFM dan dr. Bambang Wibowo, SpOG atas kesabarannya dalam membimbing penyelesaian tesis ini.
3. Dr.dr. M.Rofiq Anwar, SpPA, dr. Noor Yazid, SpPA, dr Udadi Sadhana, dari bagian patologi antomi yang telah banyak membantu dalam proses pemeriksaan jaringan.
4. Dr. Winarto, Spm , yang telah banyak membantu dalam penelitian ini
5. Para Staf Pengajar di Bagian Obstetri dan Ginekologi, Bagian Patologi Anatomi, Ilmu Kesehatan Anak, Ilmu Anestesi, Ilmu Bedah, Ilmu Radiologi atas bimbingannya selama pendidikan saya.
6. Orang tua saya Bapak Alm. Ambari / Ibu Rochayati dan mertua saya Bapak Dr. Hesti Toenggol, SpOG / Ibu Bertha N Choedrin , adik-adik yang selalu memberi dorongan dalam pendidikan saya.
7. Istri saya tercinta dr. Hesti Wahyuningsih yang selalu sabar dalam memberikan semangat dan pengorbanannya selama pendidikan saya.
8. Sejawat Residen, Bidan, dan Paramedis RSUP Dr. Kariadi Semarang atas kerjasama yang sangat baik selama ini.
9. Pihak-pihak lain yang membantu dalam penyelesaian tesis ini.

Segala saran maupun kritik yang disampaikan untuk tulisan ini sangat kami harapkan, karena kami sadar bahwa kemampuan kami sangat terbatas. Kami tetap berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat untuk pengembangan pelayanan Obstetri Ginekologi, di masa yang akan datang.

Semarang, Februari 2003

Ediwibowo Ambari

ABSTRAK

Toksoplasma akut pada wanita hamil dapat menyebabkan abortus spontan karena toksoplasma gondii dapat melewati plasenta. Pemeriksaan serologi untuk mendeteksi toksoplasma masih banyak digunakan, tetapi pemeriksaan ini tidak dapat mendeteksi adanya antigen pada jaringan abortus. Pemeriksaan imunohistokimia dapat mendeteksi antigen toksoplasma pada jaringan abortus.

Tujuan : mengetahui insiden toksoplasmosis pada penderita abortus spontan dengan memeriksa jaringan abortus dengan teknik imunohistokimia.

Rancangan penelitian : Prospektif potong lintang terhadap semua penderita abortus spontan yang memenuhi syarat sebagai sampel penelitian dari Pebruari 2000 sampai dengan sampel memenuhi.

Hasil : Didapatkan 66 kasus abortus spontan dengan rerata umur penderita $32,03 \pm 7,01$, paritas rerata $1,53 \pm 1,61$, riwayat abortus 0 sampai 3 kali, dan umur kehamilan rerata $11,95 \pm 3,11$ minggu. Didapatkan 52 kasus (78,8%) tanpa riwayat abortus. Dari seluruh abortus spontan didapatkan 9 kasus (13,6%) dengan antigen toksoplasma positif pada jaringan abortus, dan 9 kasus tersebut berasal dari kelompok tanpa riwayat abortus. Didapatkan 7 kasus toksoplasma positif terjadi pada kehamilan trimester 1 dan 2 kasus pada trimester 2.

Simpulan : Insiden toksoplasmosis pada penderita abortus spontan di RSUP. Dr Kariadi adalah 13,6%. Abortus terjadi sebagian besar pada trimester 1 (77,8%).

Kata kunci : Imunohistokimia, abortus spontan, toksoplasma gondii.

DAFTAR ISI

Halaman judul	i
Halaman persetujuan.....	ii
Kata pengantar.....	iv
Abstrak.....	v
Daftar isi.....	vi
Daftar tabel dan gambar.....	ix
Bab I. Pendahuluan.....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Permasalahan.....	3
1.3 Keaslian penelitian.....	4
1.4 Tujuan penelitian.....	4
1.5 Manfaat penelitian.....	4
Bab II. Tinjauan pustaka.....	5
2.1 Toksoplasmosis	5
2.1.1 Epidemiologi.....	5
2.1.2 Etiologi.....	6
2.1.3 Siklus hidup dan penularan.....	6
2.1.4 Gejala klinik.....	11
2.1.5 Diagnosis.....	12
2.1.6 Respon imun terhadap infeksi akut toksoplasma.....	15
2.1.6.1 Pengaruh kehamilan pada respon imun.....	16
2.1.6.1.1 Peran uterus.....	16
2.1.6.1.2 Peran plasenta.....	17
2.1.6.1.3 Mekanisme maternal.....	17
2.1.7 Penatalaksanaan.....	18

2.2 Abortus.....	20
2.2.1 Definisi.....	20
2.2.2 Insiden.....	21
2.2.3 Klasifikasi.....	21
2.2.3.1 Abortus spontan.....	21
2.2.3.2 Abortus buatan.....	22
2.2.4 Etiologi.....	23
2.3 Pemeriksaan Imunohistokimia.....	24
2.3.1 Pewarnaan yang berdasar pada konsep imunologi.....	24
2.3.1.1 Pewarnaan imunoperoksidase.....	26
2.3.1.2 Avidin biotin peroksidase complex.....	26
2.4 Kerangka teori.....	29
2.5 Kerangka konsep.....	30
BAB III. CARA PENELITIAN.....	31
3.1 Rancangan penelitian.....	31
3.2 Tempat dan waktu penelitian.....	31
3.3 Subyek penelitian.....	31
3.4 Syarat penerimaan sampel.....	31
3.5 Syarat penolakan sampel.....	32
3.6 Besar sampel.....	32
3.7 Proses penelitian.....	33
3.8 Pengolahan data.....	33
3.9 Batasan operasional.....	33
3.10 Etika penelitian.....	34
3.11 Alur penelitian.....	34
BAB IV. HASIL PENELITIAN.....	35
4.1 Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia.....	35
4.2 Karakteristik.....	35

4.2.1 Umur penderita.....	36
4.2.2 Paritas penderita.....	36
4.2.3 Riwayat abortus	37
4.2.4 Umur kehamilan	37
4.2.5 Tingkat pendidikan	37
4.3 Faktor risiko.....	37
4.3.1 kontak dengan kucing	37
4.3.2 kebiasaan makan sate	38
4.3.3 kebiasaan mencuci tangan	39
4.4 Pengetahuan tentang toksoplasma	39
BAB V. PEMBAHASAN	40
BAB VI. SIMPULAN SARAN.....	42
6.1 Simpulan	42
6.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43

BAB I.

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang.

Toksoplasmosis dalam kehamilan merupakan salah satu masalah yang sering dijumpai pada bidang obstetri dan ginekologi. Toksoplasmosis merupakan satu topik yang sedang hangat dibicarakan karena ternyata penyakit ini dapat mengakibatkan terjadinya abortus, kematian janin dan timbulnya cacat bawaan pada janin.

Angka kejadian toksoplasmosis bervariasi tergantung lokasi geografis, status sosio-ekonomi dan kebiasaan makan. Angka kejadian toksoplasmosis di Australia 4%, Finlandia 20%, Amerika Serikat 32%, Perancis 70-87%, Indonesia 2-51 %. Insiden toksoplasmosis pada wanita hamil juga bervariasi, di Perancis terdapat 10 kejadian dari 1000 sedangkan di Amerika Serikat 1.1 tiap 1000, RS. Dr. Cipto Mangunkusumo 14,3% (IHA), di RSUP dr Kariadi 1997 dilaporkan dari 100 wanita hamil tanpa komplikasi kehamilan maupun penyakit penyerta, dijumpai 52 ibu hamil ternyata pernah atau sedang mengidap penyakit toksoplasmosis¹⁻⁷.

Toksoplasmosis pada ibu yang sedang hamil dapat menyebabkan terjadinya abortus, lahir mati dan kelainan kongenital. Penelitian di RSCM dan RSHS dengan menggunakan ELISA mendapatkan 52,25% serologi positif pada pasien dengan Abortus³. Insiden toksoplasmosis kongenital sebesar

12,5% pada wanita yang mendapat infeksi akut toksoplasmosis selama kehamilan sampai usia 24-26 minggu⁸.

Abortus spontan adalah berakhirnya kehamilan yang terjadi dengan sendirinya sebelum usia kehamilan 20 minggu atau berat janin kurang dari 500 gr. Insiden abortus berkisar 15-25% dari seluruh kehamilan. Angka kejadian abortus di RSUP Dr. Kariadi tahun 1983 didapatkan 19,51%^{7,9-11}.

Toksoplasmosis adalah satu penyakit yang disebabkan oleh protozoa *Toxoplasma gondii*^{5,12}. Parasit ini hidup dalam tubuh binatang mamalia seperti kucing, dan memiliki siklus hidup yang kompleks^{2,12,13}. Penjamu (host) definitif dari parasit ini adalah dari keluarga kucing (*felidae*), sedangkan manusia merupakan penjamu (host) perantara²⁻⁶.

Gejala akibat infeksi *Toksoplasma* biasanya tidak khas dan tidak berbahaya yaitu seperti malaise, mialgia, sakit menelan, subfebris dan kadang-kadang ditemukan pembesaran kelenjar limfe leher yang nyeri tetapi tidak supuratif, tersering lokasinya dileher belakang. Infeksi ini dapat menjadi infeksi yang berat pada orang dengan immuno-compromized atau pada janin yang baru berkembang^{2,4,7}.

Dengan gejala-gejala yang tidak khas ini maka diagnosis toksoplasmosis sulit ditegakan secara klinis, untuk itu diperlukan pemeriksaan penunjang seperti histopatologis, isolasi jaringan dan imunologis. Pada saat ini metode imuno-serologis merupakan cara yang paling banyak digunakan untuk mendeteksi adanya toksoplasmosis.

Perkembangan tehnik pemeriksaan serologis ini sangat cepat, ada yang digunakan untuk mendeteksi Antibodi seperti Sabin_Fieldman(Dye test), IHA (Indirect Hema Agglutination), CF (Complement Fixation), IFA (Indirect Flourecent Antibody) dan ada yang digunakan untuk mendeteksi adanya antigen seperti ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay), dan ISAGA (Immunosorbent Agglutination Test for IgM). Cara ini relatif murah dan tidak sulit tekniknya, tetapi tidak dapat mendeteksi toxoplasmosis pada penderita dengan *immunocompromissed* dan T. Gondii jaringan ¹⁴⁻¹⁶.

Pemeriksaan imunohistokimia dan pemeriksaan imunositokimia merupakan pemeriksaan imunopatologik yang sangat potensial untuk memeriksa antigen secara lokal jaringan dan di sel . Kedua pemeriksaan ini mempunyai kemampuan yang tinggi untuk memisah, menseleksi dan bersifat spesifik, bila dibandingkan dengan pemeriksaan rutin . Hal ini disebabkan karena kedua teknik pewarnaan imunopatologik tersebut berdasar pada ikatan spesifik antara antigen dan antibodi. Sehingga pemeriksaan ini dapat dipakai pada penderita yang mengalami "*immunocompromissed*" seperti, ibu hamil dan pengidap AIDS ¹⁶⁻²⁰.

1.2 Permasalahan.

Berapa besar insiden toksoplasmosis pada penderita abortus spontan bila diperiksa dengan tehnik imunohistokimia.

1.3 Keaslian penelitian

Penelitian mengenai pemeriksaan Toksoplasma dengan teknik imunohistokimia masih jarang dilakukan, baik dari dalam dan luar negeri. Di Rumah sakit Sardjito Yogyakarta tahun 1999 pernah melakukan penelitian ini¹⁵.

Sampai saat ini penelitian mengenai pemeriksaan Toksoplasma dengan teknik imunohistokimia pada pasien dengan abortus spontan belum pernah dilakukan di RSUP Dr. Kariadi khususnya, dan di Semarang pada umumnya.

1.4 Tujuan penelitian.

Mendapatkan insiden toksoplasmosis pada abortus spontan dengan teknik imunohistokimia.

1.5 Manfaat penelitian.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan asupan dalam penggunaan teknik imunohistokimia dalam pemeriksaan antigen toksoplasma pada ibu dengan abortus spontan.

BAB II.

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Toksoplasmosis

Toksoplasmosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh Toksoplasma gondii. Parasit ini merupakan golongan protozoa dan hidup di alam bebas serta bersifat parasit obligat. Nama Toksoplasma berasal dari kata Yunani Toxon yang artinya lengkung dan Plasma yang artinya bentuk, karena bentuknya melengkung seperti bulan sabit. Parasit ini pertama kali ditemukan pada tahun 1908 oleh Nicolle dan Manceaux pada hewan pengerat (rodensia) *Ctenodactyles gondii* (gundi)^{1,5,13}.

2.1.1 Epidemiologi

Penyebaran dari toksoplasma gondii sangat luas yaitu dari daerah Alaska sampai dengan Australia. Distribusi yang sangat luas ini mungkin menjadi suatu bagian dalam mekanisme penularan. Kejadian toksoplasmosis pernah dilaporkan pada 35.940 wanita hamil di Norwegia antara tahun 1992 – 1994, 10,9 % wanita terinfeksi sebelum kehamilan. Di Indonesia pernah dilaporkan pada tahun 1995, bahwa angka prevalensi dari toksoplasmosis pada manusia berkisar antara 2- 63 %, kucing 35 – 73%, anjing 75%, babi 11-36%, kambing 11-61 %, sedangkan sapi/ kerbau kurang dari 10%¹³. Kejadian abortus spontan yang ada terjadi di RS. Dr. Ciptomangunkusumo dan RS. Hasan Sadikin, setelah sampel plasenta diisolasi pada hewan percobaan menunjukkan 81 dari 101 sampel (80,2%) positif terhadap kista toksoplasma.

Sedangkan dari keseluruhan sampel yaitu 178 memperlihatkan 52,25% positif dengan menggunakan metode Elisa. Di RS. Sardjito Yogyakarta melaporkan 39,5% sampel positif toksoplasmosis dengan pemeriksaan serologi dan imunohistokimia, serta 21% sampel positif Toksoplasmosis berdasarkan pemeriksaan serologi tetapi negatif pada pemeriksaan imunohistokimia. Satu sampel negatif pada pemeriksaan dengan serologi dan positif dengan pemeriksaan imunohistokimia^{1,2,13-15,21}

2.1.2 Etiologi

Toksoplasma termasuk dalam phylum Apicomplexa, kelas Sporozoa dan Subkelas Coccidia. Parasit yang termasuk dalam phylum ini mempunyai tiga karakteristik utama yaitu bersifat obligat intraseluler, siklus hidup yang kompleks baik secara seksual ataupun aseksual dan mempunyai host spesifik yang sangat tinggi. Genus Toksoplasma hanya terdiri dari satu spesies yaitu Toksoplasma gondii, parasit ini mempunyai sifat yang tidak umum dibandingkan dengan genus lain, diantaranya dapat menginfeksi inang antara dalam kisaran yang sangat luas (tidak bersifat host spesifik). Inang antara yang mudah terinfeksi antara lain adalah hewan berdarah panas, manusia dan burung²²⁻²³.

2.1.3 Siklus hidup dan cara penularan

Siklus hidup dari Toksoplasma gondii pertama kali dikemukakan pada tahun 1970 oleh Hutchinson dan sebagai inang definitif (penjamu) adalah kelompok familia Felidae termasuk kucing – kucing yang sudah

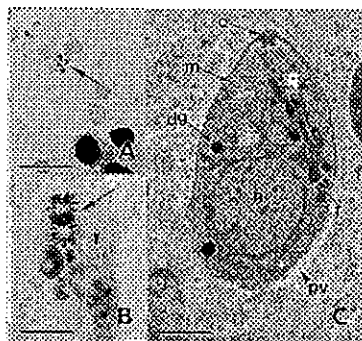
terdomestikasi. Hewan berdarah panas, manusia, dan unggas sebagai inang perantara. Kucing yang terdomestikasi merupakan golongan yang sangat penting untuk penularan terjadinya toksoplasmosis pada hewan lain ataupun manusia. Parasit ini ditularkan dengan tiga cara yaitu¹⁴⁻²⁴:

1. cara kongenital yaitu melalui plasenta,
2. mengkonsumsi daging yang terkontaminasi oleh kista
3. melalui kotoran asal kucing yang mengandung ookista.

Dalam siklus hidupnya pada phylum Apicomplexa mengenal 3 stadium yaitu :

1. stadium takizoit yaitu stadium multiplikasi aktif dari trophozoit dan biasanya teramati pada infeksi akut. Stadium ini paling sering dijumpai pada organ tubuh khususnya otak, otot daging, otot jantung dan mata.
2. Stadium bradizoit merupakan stadium dimana kista tidak aktif dan berada dalam jaringan serta bersifat infeksius.
3. Stadium ookista yang berada dalam kotoran kucing. Dalam siklus hidupnya diperantarai oleh sel inang ke intraselular inang dan kemudian melakukan multiplikasi dan parasit ini mempunyai siklus hidup yang bersifat obligat dengan fase seksual dan aseksual. Siklus seksual terjadi pada tubuh kucing dan siklus aseksual terjadi pada berbagai inang antara yang sangat bervariasi.

Kucing terinfeksi oleh Toksoplasma gondii setelah menelan makanan yang mengandung kista yang ada dalam jaringan tubuh inang antara (rodensia, burung dll) yang terinfeksi. Parasit akan multiplikasi dalam dinding usus kecil dan memproduksi ookista. Ookista ini akan diekresikan melalui feses dalam jumlah besar selama 2 – 3 minggu, dalam waktu 5 hari ookista akan mengalami sporulasi dan menginfeksi hewan lain atau manusia. Ookista ini sangat tahan terhadap perubahan kondisi lingkungan dan akan bertahan hidup dan berdiam pada tanah yang basah ataupun pada tanah berpasir. Selama menginfeksi intrainestinal pada kucing, kista akan pecah dalam lumen usus dan melakukan penetrasi pada bagian enterosit usus dan melewati bagian lamina propia kemudian bereplikasi dalam tubuh secara cepat dan menjadi stadium takizoit (silkus ekstraselular intestinal) (gambar 1).



Gambar 1 : Stadium takizoit

Sumber : Dubey JP. *Toxoplasma gondii* ²².

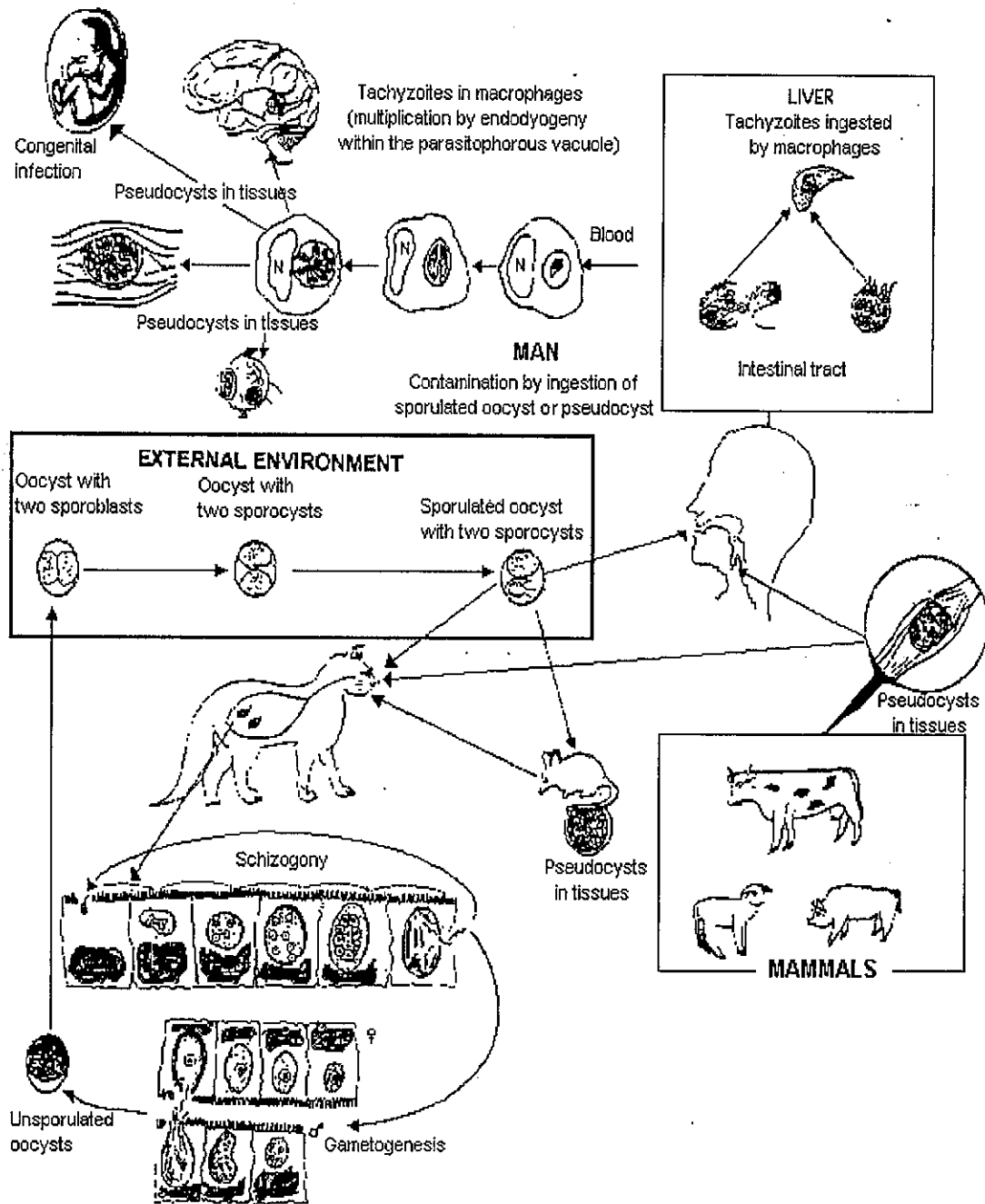
- A: bentuk ekstraselular, terlepas dari hospes
- B: bentuk intrasel, seperti bunga mawar berada dalam vacoula
- C: gambaran takizoit dengan mikroskop elektron

Stadium ini merupakan stadium akut yang berkaitan dengan gambaran patologi. Pada stadium ini proses respon kekebalan tubuh akan sangat membantu, hal ini disebabkan pada stadium takizoit secara cepat akan menyebar dan bereplikasi dalam sel epitel intestinal (siklus entero-epitelial) serta keseluruhan jaringan tubuh inang. Siklus ini merupakan puncak dari reproduksi seksual⁵.

Adanya sistem kekebalan dari kucing, menyebabkan pelepasan ookista terhenti dan perkembangan takizoit tertahan dan akan menghasilkan bentukan yang disebut bradizoit (replikasi terjadi secara pelan). Stadium ini banyak ditemukan pada otak dan otot jaringan ataupun otot jantung. Secara perlahan stadium ini akan berubah menjadi kista dan menyebabkan infeksi secara kronik pada inang perantara^{5,22}.

Siklus seksual hanya terjadi pada kelompok *feline* dan diawali karena kucing menelan jaringan yang mengandung kista ataupun bradizoit. Fertilisasi terjadi didalam usus dan akan membentuk ookista. Pada saat berkontak dengan udara, ookista akan berdeferensiasi dan membentuk dua sporokista, masing – masing sporokista akan mengandung 4 sporozoit. Keseluruhan siklus terjadi selama 3 – 10 hari dari saat tertelannya bradizoit dan 18 hari setelah ingesti ookista. Kucing yang terinfeksi akan memproduksi ookista dalam jumlah ribuan^{5,22}. Ketiga stadium ini dapat dijumpai pada mamalia yang terinfeksi toksoplasma. Stadium takizoit dengan cepat akan berkembang biak intraseluler, hal ini yang bertanggungjawab pada infeksi akut dan dapat menembus semua jenis sel.

Gambar 2. Siklus hidup Toksoplasma gondii.



Sumber : Anonim. Toksoplasma Gondii. <http://www.cdfound.to.it/HT:/fl/tg1.htm> ^{23,24}

Faktor imun host berperan dalam merubah stadium takizoit menjadi bradizoit. Hal ini juga dipengaruhi oleh pengaruh lingkungan seperti suhu, pH, temperatur, dan TNF-alpha. Host dapat terinfeksi parasit ini pada semua stadium. Ookista akan tertelan bersama kontaminasi makanan, takizoit secara transplasenta dan bradizoit dengan memakan daging yang mengandung bradizoit²⁵.

2.1.4 Gejala klinik

Gejala akibat infeksi toksoplasma biasanya tidak khas dan tidak berbahaya yaitu seperti, malaise, mialgia, sakit menelan, subfebris dan kadang-kadang ditemukan pembesaran kelenjar limfe leher yang nyeri tetapi tidak supuratis. Toksoplasmosis dapat menimbulkan infeksi yang berat pada orang dengan immunocompromized atau pada janin yang baru berkembang. Gejala akan muncul dan sifatnya adalah individual. Gejala serius muncul pada bayi yang dilahirkan abortus dan lahir dini (1 : 10 bayi yang terinfeksi) dengan ditemukan gejala infeksi mata, pembesaran hati dan limpa, kuning pada mata dan kulit dan pneumonia ,ensefalopati dan diikuti kematian. Sedangkan pada bayi yang lahir normal, gejala akan tampak setelah beberapa minggu, bulan atau tahun setelah lahir. Gejala ini banyak dijumpai setelah usia pubertas misalnya adanya gangguan pada mata sampai terjadi kebutaan, kegagalan pada sistem syaraf, gangguan pendengaran (bisu- tuli), deman, kuning akibat gangguan hati,erupsi kulit, gangguan pernafasan. Pada bentuk laten biasanya berupa kerusakan psikomotor, konvulsi dan pembesaran kepala (hidrosepalus)^{5,13,22}. Pada 69% kasus berkaitan dengan korioretinitis dengan peningkatan volume

otak .Pada penderita imunocompromise, yaitu penderita AIDS, kanker ataupun transplantasi organ gejala akan cepat terlihat yaitu adanya gangguan sistem syaraf, encephalitis, pembesaran limfoglandula, gangguan mata, pendengaran, gangguan pernafasan dan gangguan jantung dan angka kematian pada penderita diatas cukup tinggi .

Wanita hamil yang terinfeksi akut toksoplasma akan memberi dampak pada embrio sejak usia kehamilan 7 minggu. 17% dari infeksi maternal akan ditransmisikan ke embrio . Lesi pada usia kehamilan muda akan sangat merusak dari embrio atau fetus, seperti hidropfetalis, sampai abortus spontan, selain itu juga dapat menyebabkan terjadinya kelahiran dini, gangguan pada bayi yang dilahirkan berupa, lahir dengan berat badan yang abnormal, kebutaan, kehilangan pendengaran, gangguan perkembangan mental. Transmisi dari penyakit ini meningkat sampai dengan 67% pada trimester 3 kehamilan. Tetapi kerusakan yang diakibatkan tidak begitu parah ^{5,22,26,27} .

2.1.5 Diagnosis

Untuk melakukan diagnosa terhadap penyakit toksoplasmosis dapat dilakukan beberapa cara yaitu bisa menggunakan cara serologi ataupun pemeriksaan histopatologi. Dengan hanya melihat gejala klinik maka diagnosa kurang bisa ditegakkan karena gejala yang tampak tidak spesifik . Pemeriksaan langsung bisa dilakukan dengan cara melihat adanya "*dark spot*" pada retina, melakukan pemeriksaan darah untuk melihat apakah parasit sudah menyebar melalui darah

dengan melihat perubahan yang terjadi pada gambaran darahnya, serta dapat menggunakan CT-Scan, MRI untuk menemukan lesi akibat parasit tersebut. Pemeriksaan juga bisa dilakukan dengan biopsi dan dari sampel biopsi tersebut dapat dilakukan pengujian dengan menggunakan PCR, isolasi pada hewan percobaan ataupun pembuatan preparat histopatologi^{7,14,22}.

Perkembangan tehnik pemeriksaan serologis ini sangat cepat. Metode diagnosa lain yang sering digunakan adalah dengan menggunakan Indirect haemagglutination (IHA), Sabin fieldman (dye test), Indirect Flourecent Antibody (IFA) ataupun dengan Enzym Immunoassay (Elisa).

Immunoglobulin M (IgM) terbentuk segera setelah terjadi infeksi dan menetap selama 1-3 bulan, kemudian menghilang, sedangkan Immunoglobulin G (IgG) terbentuk setelah 2 – 3 bulan setelah terjadi infeksi dan kadarnya meninggi pada bulan pertama lalu menurun dan menetap selama bertahun-tahun dalam kadar yang rendah. Pada beberapa individu IgM dapat menetap selama bertahun-tahun setelah infeksi primer.

Interpretasi hasil serologik masih kontroversial, umumnya dikatakan terdapat infeksi yang baru akut bila ditemukan IgM yang positif atau terdapat serokonversi IgG pada orang yang sebelumnya seronegatif atau terdapat kadar IgG yang sangat tinggi atau meningkat 2 kali.

Adanya IgG dapat menjadi petanda adanya kekebalan terhadap kemungkinan infeksi berikutnya. Secara klinis penting ditentukan kapan terjadinya infeksi, apakah terjadi sebelum konsepsi atau sesudahnya. Akhir-akhir ini ditemukan pemeriksaan

IgG-avidity untuk melihat kronisitas infeksi, semakin tinggi kadar aviditas semakin lama infeksi telah terjadi.

Tabel 1. Panduan interpretasi hasil-hasil tes serologi Toksoplasma.

Hasil IgG	Hasil IgM	Laporan/Interpretasi kondisi penderita toksoplasmosis kecuali pada bayi
Negatif	Negatif	Tidak ada bukti serologi dari infeksi <i>Toxoplasma gondii</i>
Negatif	Ekuivokal	Kemungkinan infeksi akut awal atau reaksi IgM positif palsu. Ulangi tes. Jika spesimen baru memberikan hasil yang sama, pasien tersebut kemungkinan tidak terinfeksi <i>Toxoplasma gondii</i>
Negatif	Positif	Kemungkinan infeksi akut atau hasil IgM <i>false-positive</i> . Tes IgG & IgM hendaknya diulang. Jika spesimen baru memberikan hasil yang sama, reaksi IgM kemungkinan <i>false-positive</i> .
Ekuivokal	Negatif	Tidak tercermin: lakukanlah tes lain dengan menggunakan spesimen baru atau ulangi tes spesimen yang sama untuk IgG tapi menggunakan assay yang berbeda.
Ekuivokal	Ekuivokal	Tidak tercermin: lakukan tes baru menggunakan spesimen baru untuk tes IgG dan IgM
Ekuivokal	Positif	Kemungkinan infeksi akut <i>Toxoplasma gondii</i> . Ulangi tes dengan menggunakan spesimen baru untuk tes IgG dan IgM. Jika hasilnya dengan spesimen baru tetap sama atau bahkan IgG menjadi positif, kedua spesimen harus dikirim ke laboratorium rujukan yang berpengalaman dengan diagnosis toksoplasmosis
Positif	Negatif	Infeksi <i>Toxoplasma gondii</i> lebih dari 1 tahun
Positif	Ekuivokal	Infeksi <i>Toxoplasma gondii</i> mungkin lebih dari 1 tahun atau reaksi <i>false-positive</i> IgM. Jika hasil dari spesimen kedua tetap sama, kedua spesimen dapat dikirim ke laboratorium rujukan yang berpengalaman dengan diagnosis toksoplasmosis.
Positif	Positif	Kemungkinan infeksi baru antara 12 bulan. Kirim spesimen ke laboratorium rujukan yang berpengalaman dengan diagnosis toksoplasmosis

Sumber : Chandra G. Toksoplasmosis: Efikasi pengobatan dengan spiramycin 3×10^6 IM (3MIU)²⁸

Beberapa pedoman yang dapat digunakan dalam menilai hasil serologi sebagai berikut¹⁴:

1. Infeksi primer akut dapat dicurigai bila :

- terdapat serokonversi IgG atau peningkatan IgG 2-4 kali lipat dengan interval 2-3 minggu
- terdapat IgGA dan IgM positif menunjukkan infeksi 1-3 minggu yang lalu
- IgG-avidity yang rendah

- Hasil Sabin-Feldman/IFA > 300IU/ml atau 1:1000
 - IgGM-IFA 1:80 atau Elisa 2600Iu/ml
2. IgG yang rendah dan stabil tanpa disertai IgM diperkirakan merupakan infeksi yang lampau.
 3. ada 5% penderita dengan IgM persisten yang bertahun-tahun akan positif.
 4. satu kali pemeriksaan dengan IgG dan IgM positif tidak dapat dipastikan sebagai infeksi akut dan harus dilakukan pemeriksaan ulang atau pemeriksaan lain.

2.1.6 Respons imun terhadap infeksi akut toksoplasma

Karakteristik yang khas pada fase akut adalah meningkatnya antibodi IgG dan IgM yang melawan secara langsung antigen utama P30 atau SAG1. Pada fase infeksi kronis akan muncul antibodi IgG. Stadium kronis ditandai dengan IgG yang spesifik. Namun demikian antibodi sirkulasi ini menandakan adanya infeksi tetapi tidak dapat menandakan adanya penyakit. Sebagian besar parasit intraseluler akan dipengaruhi oleh imunitas seluler khususnya sel T. Interferon- γ (gamma) mempunyai peranan yang penting terhadap infeksi ini ; mencit yang diterapi dengan anti-interferon gamma atau defisiensi interferon- γ akan mati karena toksoplasmosis. Sel pertama yang diaktivasi adalah sel NK (*natural killer*) dan sel monosit yang akan menghasilkan interferon gamma dan IL-12 (interleukin). IL-12 menginduksi populasi limfosit (CD4+, CD8+) terhadap suatu fenotip Th1 (T-helper) yang

menghambat toksoplasma. Sitokin yang berasal dari Th2 akan mempunyai efek regulasi yang berlawanan²⁵.

2.1.6.1 Pengaruh kehamilan pada respon Imun :

Ada 3 mekanisme yang sangat berperan sangat penting yang berhubungan dengan imunologi kehamilan pada seorang ibu hamil yaitu :

- peran uterus
- peran placenta
- mekanisme maternal (respon imun)

2.1.6.1.1 Peran uterus

Uterus dikenal bukan sebagai "*privileged site*" karena uterus dipenuhi dengan vaskularisasi dan drainage limfatik. Uterus sendiri merupakan organ yang mampu menghasilkan imunoglobulin namun tetap sangat peka terhadap infeksi. Sedangkan didalam desidua uterus ditemukan 20% mengandung makrofag, 10% mengandung limfosit T, 40% sel NK, CD56+ dan TCR.

Untuk melawan mikroorganisme intraseluler diperlukan respon imun seluler yang merupakan fungsi limfosit T. Ada dua cara untuk menyingkirkan mikroorganisme ini . sel terinfeksi dapat dibunuh melalui efektor ekstra seluler, misalnya oleh sel T sitotoksik, atau sel terinfeksi diaktivasi agar mampu membunuh organisme ini. Subpopulasi sel T yang disebut T-Helper (Th) akan mengenali antigen

bersangkutan yang terdapat pada makrofag atau sel yang terinfeksi melalui reseptor TCR dan molekul MHC kelas II.

Yang sangat penting dalam kehamilan uterus diketahui mengandung sel limfosit T yaitu T-helper 1 dan T-helper 2. Th-1 mengeluarkan sitokin IFN- γ , IL-2 dan TNF- α yang secara normal tidak memiliki peran selama kehamilan, namun dapat membahayakan bila beraktifitas. Th-2 dengan sitokinnya IL-4 dan IL-10 sangat potensial untuk menjaga kehamilan.

2.1.6.1.2 Peran Plasenta

Plasenta merupakan suatu barier yang dapat berperan melawan infeksi melalui sirkulasi didalam sel-sel antara fetus dan maternal.

2.1.6.1.3 Mekanisme maternal (respon imun)

Konsep Th-1 dan Th-2 selama kehamilan dalam menjaga kehamilan maupun pencegahan infeksi sangat penting, respon imun maternal mempunyai ikatan sangat erat dengan Th-1 dan Th-2. Th-2 sangat berguna didalam kelestarian kehamilan dengan produksi sitokinnya. Terjadinya kegagalan kehamilan yang berturut-turut telah dibuktikan karena adanya penurunan sitokin Th-2 (IL-4 -IL-10). Pada pencegahan infeksi kehamilan maka pola berubah Th1 > Th2 yang berguna terhadap infeksi virus, bakteri dan tokoplasma ²⁵.

2.1.7 Penatalaksanaan

Dalam penatalaksanaan meliputi bagaimana cara pencegahan dan pengobatan terhadap toksoplasmosis. Untuk pencegahan terhadap toksoplasmosis antara lain dengan ^{5,22} :

1. Meminimalkan paparan terhadap parasit tersebut dengan jalan memasak daging sapi, babi, kambing dan lainnya dengan pemanasan internal 70°C (158°F) sedikitnya 15 – 30 menit. Dengan melakukan *freezing thawing*, penggaraman, pengasapan ataupun pengasinan, kista tidak dapat dihancurkan. Menghindari mengkonsumsi susu kambing yang tidak dipasteurisasi ataupun telur mentah.
2. Menghindari kontak langsung dengan tanah yang potensial sebagai tempat ookista, karena ookista akan mampu bertahan dalam tanah dalam waktu yang sangat lama dan tidak terpengaruh oleh buruknya kondisi lingkungan atau menggunakan sarung tangan selama kontak dengan tanah melakukan cuci tangan dengan sabun dan air.
3. Hindari kontaminasi silang antara bahan mentah dengan bahan makan yang telah matang.
4. Membiasakan mencuci sayur dan buah yang akan dikonsumsi.
5. Membersihkan tangan dengan air dan sabun setelah mempersiapkan daging mentah untuk dimasak .
6. Membuang feses kucing dari kandang kucing setiap hari untuk mencegah ookista sporulasi.

7. Melakukan disinfeksi kandang kucing dengan mencuci menggunakan air mendidih ataupun dengan sterilisasi 55°C, disinfeksi dengan bahan kimia tidak menghancurkan ookista.
8. Tidak memberikan daging mentah pada kucing dan biarkan kucing tetap berada dirumah agar tidak memburu rodensia ataupun burung liar.
9. Untuk wanita hamil hindari mengkonsumsi daging yang dalam pemasakan kurang sempurna (daging asap, salami dll) serta susu ataupun produk yang tidak terpasteurisasi.

Pemberian antibiotika merupakan salah satu cara untuk untuk pengobatan toksoplasmosis. Antibiotika yang sering digunakan adalah :

1. kombinasi antara pyrimethamine dan sulfonamide dan kombinasi ini efektif untuk infeksi akut¹⁴ .Kombinasi ini dapat digunakan pada kehamilan diatas 20 minggu untuk mencegah efek teratogeniknya.

Preparat ini digunakan dengan dosis :

- Sulfonamide/Sulfadiazin : 1000 mg 2-6 kali perhari di kombinasikan dengan
- Pirimethamin 25 mg 2 kali perhari bersama
- Asam Folat 10 mg/minggu

Kombinasi ini dipakai selama 4 minggu dan diulang lagi dengan interval 4 minggu sampai terjadi persalinan. Pemantauan efek samping yang timbul dilakukan secara rutin untuk efek terjadinya trombositopenia, agranulositosis atau anemia megaloblastik.

2. Spiramisin sebagai antibiotika golongan makrolide digunakan secara hati-hati pada kehamilan trimester pertama dengan dosis 3 x 1 gr selama 4 minggu dan diulang setiap 4 minggu sampai persalinan

World Health Organization (WHO) merekomendasikan :

- Sampai dengan usia kehamilan 20 minggu diberikan 9 juta Unit Spiramisin secara oral setiap hari selama 4 minggu dan diulang kembali setelah 4 minggu.
- Setelah usia kehamilan 20 minggu di gunakan kombinasi sulfadiazine 1000mg dan pirimetamin 25mg/hari dan asam folat 10 mg/minggu. Setelah berhenti 4 minggu regimen ini diteruskan kembali ²⁹.

2.2 Abortus

2.2.1 Definisi

Abortus adalah keadaan dimana terjadi berakhirnya kehamilan sebelum janin dapat hidup diluar kandungan ^{9,11} . Batasan janin yang dapat hidup diluar kandungan, sangat bervariasi di beberapa negara. Di Inggris kehamilan kurang dari 28 minggu dan kurang dari 20 minggu atau berat janin kurang dari 500 gr di Amerika dan Australia. Batasan yang banyak di gunakan ialah berat janin kurang dari 500 gr atau umur kehamilan kurang dari 20 minggu ^{9,30} .

2.2.2 Insiden

Insiden abortus spontan diperkirakan 10%-20% dari seluruh kehamilan. Namun angka ini mempunyai dua kelemahan, yaitu kegagalan untuk menghitung abortus dini yang tidak terdeteksi, serta aborsi ilegal yang dinyatakan sebagai abortus spontan. Insiden abortus spontan sulit untuk ditentukan secara tepat, karena sampai sekarang belum diterapkan kapan sebenarnya dimulainya kehamilan? Apakah penetrasi sperma kedalam sel telur sudah merupakan kehamilan? Apakah pembelahan sel telur yang telah dibuahi berarti mulainya kehamilan? Atau kehamilan dimulai setelah blastocyst membenamkan diri kedalam decidua? Atau setelah janin "bernyawa"?

Dengan pemeriksaan tes yang dapat mendeteksi Human Chorionic Gonadotropin maka frekuensi abortus akan menjadi lebih tinggi (20% - 62%).

2.2.3 Klasifikasi⁹

Menurut terjadinya abortus dibagi menjadi :

1. Abortus Spontan
2. Abortus buatan

2.2.3.1 Abortus spontan

Berakhirnya kehamilan sebelum hasil konsepsi mampu hidup diluar uterus karena sebab alamiah, tanpa intervensi luar (buatan) . Terminologi umum untuk masalah ini adalah keguguran atau *miscarriages*^{9,11,32} .

Menurut gambaran klinisnya abortus spontan terdiri dari :

1. Abortus Imminens (Threatened abortion)
2. Abortus insipiens (Inevitable)
3. Abortus Inkompletus
4. Abortus kompletus
5. Retensi janin mati(Missed abortion)
6. Abortus Habitualis

Tabel 2. Diagnosis banding dari jenis abortus.

Jenis Abortus	Perdarahan	Nyeri	Servikal dilatasi	Ukuran uterus	Hasil konsepsi	Syok	Tes Kehamilan
Imminens	+	-	-	Sesuai dengan usia kehamilan	-	-	+
Insipiens	++	+	+	Sesuai dengan usia kehamilan	-	±	+
Inkomplet	++	+	+	Lebih kecil	+	±	+
Komplet	+	-	-	Lebih kecil	+	-	+
Missed	±	-	-	Lebih kecil	-	-	-

Sumber : El-Mowafi DM. Bleeding in early pregnancy, abortion¹¹

2.2.3.2 Abortus buatan

Abortus buatan dibagi menjadi :

- Abortus medicinalis
- Abortus kriminalis

2.2.4 Etiologi¹¹ .

1. Kelainan kromosom. 50 % abortus dini disebabkan kelainan ini seperti, trisomy, monosomy dan triploidy.
2. Blighted Ovum (anembrionic gestasional sac)
3. Infeksi pada ibu. Seperti Toksoplasma gondii, cytomegalovirus, listeria monocutogenes, mycoplasma hominis.
4. Trauma. Trauma dari luar maupun trauma selama operasi pelvis
5. Endokrin. Seperti:
 - a. Defisiensi progesteron
 - b. Diabetes mellitus
 - c. Hyperthyroid
6. Obat-obatan. Seperti: Quinin, Ergot, tembakau, alkohol, arsenic, radiasi
7. Immunologi. seperti :
 - a. Sistemik lupus Eritematosus
 - b. Antiphospolipid antibodi
 - c. Inkompatibilitas Human lekosit antigen (HLA)
8. Kelainan Uterus
9. Idiopatik

Mekanisme terjadinya abortus :

- a. Sampai dengan usia kehamilan 8 minggu. Saccus gestasional akan keluar secara keseluruhan dan diikuti dengan perdarahan.

- b. 8-12 minggu. Desidua kapsularis pecah dan embrio keluar atau setelah amnion pecah.
- c. Setelah 12 minggu. Plasenta telah terbentuk sehingga proses abortus mirip dengan persalinan mini. Umumnya janin akan keluar tetapi plasenta akan tertahan.

2.3 Pemeriksaan Immunohistokimia ¹⁵⁻²⁰

Pemeriksaan imunopatologik sangat potensial untuk memeriksa antigen secara lokal jaringan, pemeriksaan demikian selanjutnya disebut pemeriksaan Immunohistokimia, sedangkan pemeriksaan antigen lokal di sel selanjutnya disebut sebagai pemeriksaan imunositokimia. Kedua pemeriksaan ini mempunyai kemampuan yang tinggi untuk memisah, seleksi dan bersifat spesifik, bila dibandingkan dengan pemeriksaan lain. Pemeriksaan immunohistokimia untuk mendeteksi adanya antigen toksoplasma mempunyai nilai sensitifitas 65,4% dan spesifisitas 94,1%. Hal ini disebabkan pada pemeriksaan ini berdasar pada ikatan spesifik antigen-antibodi . karena itu pemeriksaan ini banyak dimanfaatkan untuk meningkatkan kualitas diagnosis, memantau dan evaluasi hasil pengobatan serta memeriksa petanda yang bernilai sebagai prognostikator.

2.3.1 Pewarnaan yang berdasar pada konsep imunologi

Pewarnaan sediaan jaringan yang berdasar pada prinsip imunologi, adalah semua pewafnaan yang berdasarkan kekhususan ikatan antigen dengan antibodinya. Agar

ikatan ini dapat dilihat dengan mikroskop, maka antibodi yang digunakan untuk memeriksa diberi label. Secara garis besar terdapat dua tipe prosedur, yang satu berdasarkan pada penggunaan molekul penanda floresen, dan yang lain berdasar pada enzim yang menghasilkan produk reaksi yang visibel. Pemberian label imunofluoresen adalah bahwa suatu molekul penanda fluorezen dieksitasi pada suatu panjang gelombang dan kemudian memancarkan cahaya pada panjang gelombang yang berbeda. Fluorokrom yang paling banyak digunakan adalah flouresein, rhodamine dan Texas red. Enzim yang digunakan secara paling luas dalam prosedur ini adalah horseradish peroksidase. Molekul ini kecil (berat molekulnya kira-kira 40 kDa) dibandingkan molekul antibodi, relatif mudah dan murah untuk dipurifikasi, dan stabil secara enzimatis. Ini dapat dideteksi oleh sejumlah reaksi sitokimia yang berbeda dan menghasilkan produk reaksi yang tidak larut dengan lokasi yang berbatas tegas, tetapi substrat yang paling sering digunakan mengandung diaminobenzidine (DAB) dan hidrogen peroksida. Pewarnaan sediaan tergantung dari substrat yang digunakan. Imunoperoksidase umumnya 3,3 Diamino Benzidine (DAB). DAB merupakan bahan yang karsinogenik, yang bila diberi enzim peroksidase, substrat tersebut berwarna coklat. Warna coklat tersebut yang dijadikan label untuk mengetahui adanya antigen yang diperiksa. Ada beberapa cara teknik pemeriksaan diantaranya :

2.3.1.1 Pewarnaan imunoperoxidase

Berdasarkan pada ikatan antigen dan antibodi, maka pemeriksaan ini dapat dibagi lagi menjadi dua, yaitu :

- a. Pewarnaan imunoperoxidase langsung
- b. Pewarnaan imunoperoxidase tidak langsung

2.3.1.2 Avidin Biotin Peroxidase complex (ABC)

Pada teknik pewarnaan Avidin Biotin Peroxidase Complex memerlukan antibodi yang dilabel dengan biotin, sebagai antibodi primer pada teknik langsung, dan sebagai antibodi sekunder pada metode tidak langsung. Antibodi yang dilabel dengan biotin ini akan tampak melalui tiga cara, yaitu :

- dilabel dengan avidin
- bersama penampilan avidin sebagai *a bridge with biotinylated enzyme*
- bersama avidin-biotin-peroxidase complex (ABC)

Pemeriksaan dengan teknik avidin-biotin berdasar pada empat prinsip utama, yaitu:

1. Afinitas yang luar biasa antara molekul avidin dan biotin yang berikatan satu dengan yang lainnya sedemikian erat, sebagai ikatan kompleks yang permanen. Reaksi antara avidin dan biotin merupakan ikatan non-covalent, yang merupakan ikatan yang sangat cepat dan kuat.
2. kemungkinan pelabelan biotin pada molekul besar, seperti enzim, antibodi, melalui reaksi kimia tunggal

3. kemungkinan pelabelan avidin pada berbagai petanda seperti , enzim, metal berat dan fluochrom
4. kemungkinan penggunaan avidin sebagai jembatan antara dua molekul berlabel biotin yang berbeda, seperti antibodi dan peroksidase.

Avidin adalah glikoprotein dengan berat molekul 67 kdal, yang berada dalam jumlah besar pada putih telur. Avidin berisi 4 subunit, yang setiap subunit terdiri dari rantai tunggal polipeptida dengan 128 asam amino, yang diantaranya terdapat triptopan pada posisi 10,70,97,110. setiap subunit mempunyai oligisakarida, yaitu manosa dan glukosamin. Hidrophobic pocket, yang terdapat pada permukaan setiap subunit, yang merupakan tempat ikatan spesifik dengan biotin. Reaksi antara avidin-biotin merupakan ikatan no-covalen, yang telah terbukti merupakan reaksi yang sangat cepat. Keduanya akan dapat dipisahkan pada pH yang sangat rendah, yaitu 1,5.

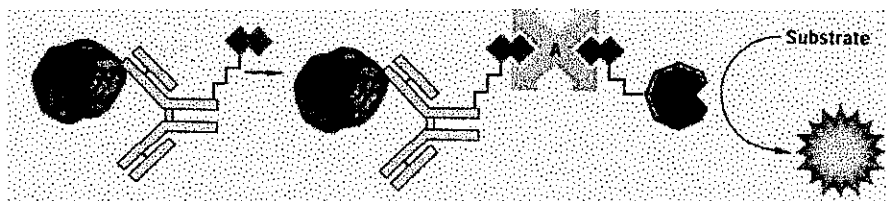
Biotin merupakan vitamin H yang larut dalam air, dengan berat molekul yang sangat rendah, yaitu 224 dal, yang terutama didapatkan pada egg yolk, dan dapat ditemukan di jaringan lain pada hewan dan tanaman.

Biotinilisasi adalah proses kimia yang menggunakan biotin untuk melabel suatu molekul, seperti enzim, lectin, asam nukleat. Pertama kali biotin diubah menjadi bentuk aktif, yang kemudian akan bereaksi dengan gugus NH_2 dari protein, sehingga protein tersebut dengan biotin.

Avidin dapat dilabel dengan petanda, seperti flourokrom (rodamin dan flourescein), enzim (peroksidase, fosfatase), ferritin dan partikel emas. Flourokrom dapat berikatan dengan avidin melalui derivat isotianat.

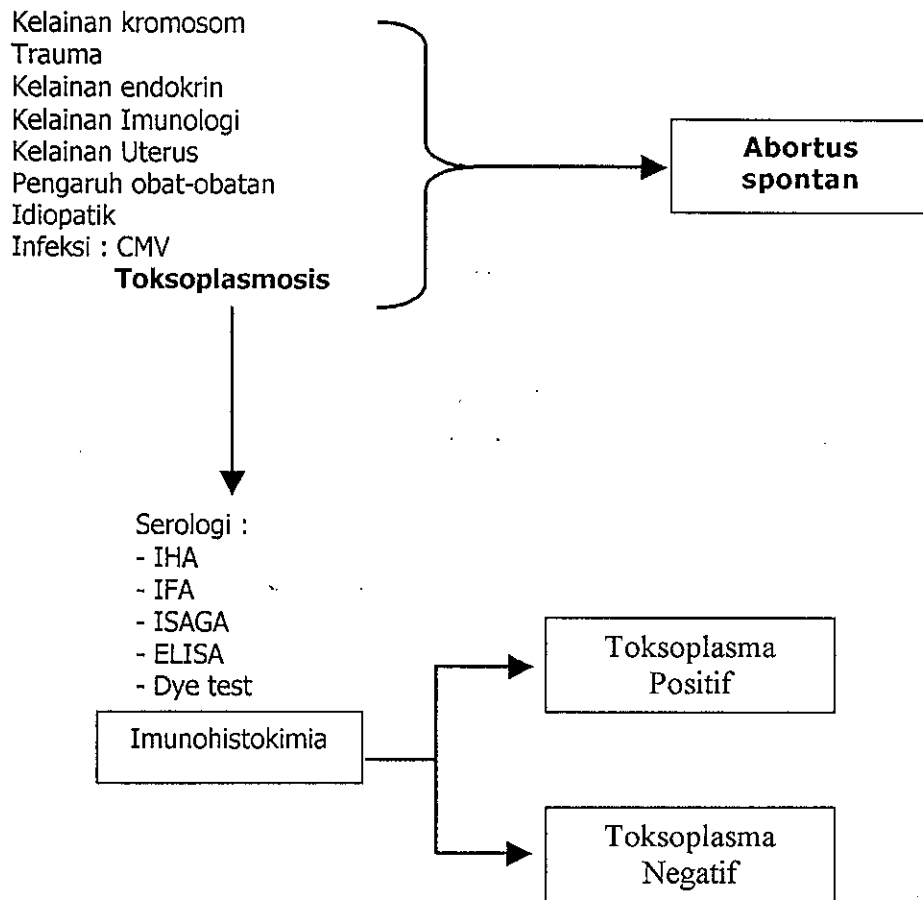
Avidin juga dapat digunakan sebagai molekul perantara, yang dibatasi oleh proses imunoenzymatik. Pada teknik ini antibodi yang ditemplei dengan biotin dapat sebagai antibodiprimer atau sekunder. Reaksi pertama dengan avidin yang tidak berlabel, kemudian ditemplei dengan penambahan peroksidase yang dilabel dengan biotin.

Gambar 3. Pengecatan Imunohistokimia

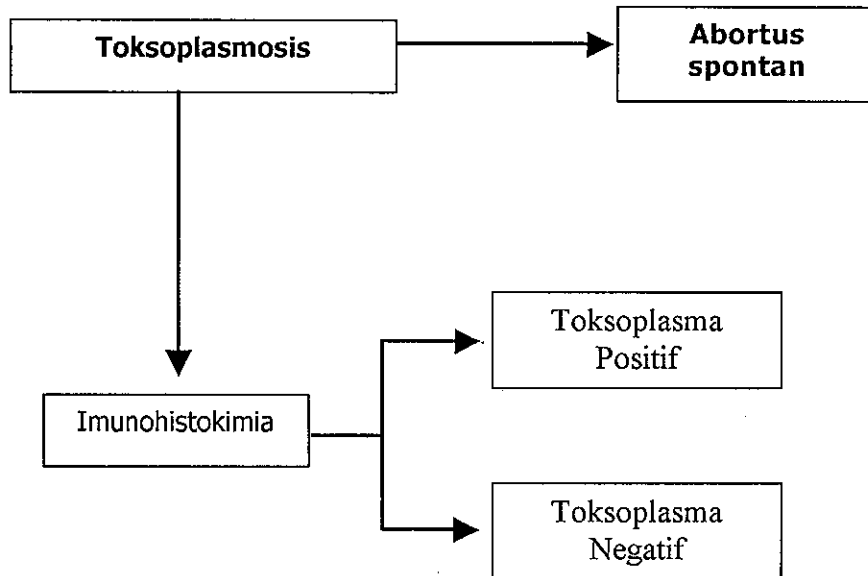


sumber : Pierce Chemical Technical Library, [http:// www.piercenet.com](http://www.piercenet.com)³³ .

2.4 Kerangka teori



2.5 Kerangka konsep



BAB III.

CARA PENELITIAN

3.1 Rancangan penelitian.

Penelitian ini merupakan suatu penelitian deskriptif melalui pendekatan "*cross sectional*".

3.2 Tempat dan waktu penelitian.

Penelitian dilakukan di Bagian/SMF Obstetri dan Ginekologi dan Bagian/SMF Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro – Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Kariadi, Semarang, mulai Februari 2001 hingga jumlah sampel memenuhi.

3.3 Subyek Penelitian.

Subyek penelitian adalah penderita abortus spontan yang dirawat inap dan akan dilakukan tindakan kuretase di Bagian/SMF Obsteri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro – Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Kariadi, Semarang.

3.4 Syarat penerimaan sampel

- a. Umur kehamilan ≤ 20 minggu atau janin kurang dari 500 gram.
- b. penderita bersedia mengikuti penelitian.

3.5 Syarat Penolakan sampel.

- a. Ada riwayat provokatus

3.6 Besar sampel³⁰.

Besar sampel dihitung berdasarkan rumus :

$$n = \frac{(Z\alpha \sqrt{PoQo} + Z\beta \sqrt{PaQa})^2}{(Pa-Po)^2}$$

Toksoplasmosis dengan pemeriksaan imunohistokimia =41,9% (Po)

Toksoplasmosis dengan pemeriksaan imunohistokimia di harapkan =60% (Pa)

Kemaknaan yang diinginkan 95% ($Z\alpha = 1,960$)

Power penelitian yang diinginkan 85% ($Z\beta = 1,036$)

N = 66,37 di bulatkan 66 sampel penelitian

3.7 Proses Penelitian .

- a. Penderita dilakukan kuretase dan sebagian sisa hasil konsepsi yang diperoleh dari kuretase yang dilakukan dikamar bersalin RSUP dr Kariadi Semarang dan diawetkan dalam buffer formalin untuk kemudian dilakukan pengecatan dengan teknik imunohistokimia dengan menggunakan reagen Neomarker Catalogue no :RB-282-A antibodi Toksoplasma gondii poliklonal.
- b. Data mengenai penderita diambil sesuai dengan variabel yang dibutuhkan.

3.8 Pengolahan data.

Pengolahan data menggunakan program SPSS Ver. 10 for windows, 1999, dengan tampilan data dengan tabel distribusi frekuensi tunggal maupun tabel ganda.

3.9 Batasan operasional.

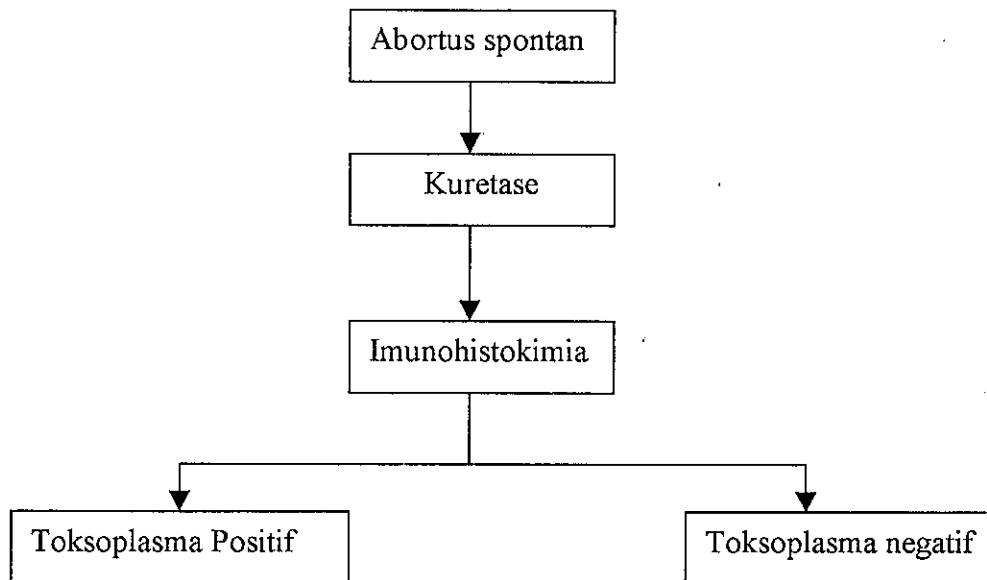
- a. Umur kehamilan ditentukan berdasarkan rumus Naegele jika Hari pertama haid terakhir diketahui.
- b. Abortus spontan adalah berakhirnya kehamilan sebelum hasil konsepsi mampu hidup diluar uterus karena sebab alamiah, tanpa intervensi luar(buatan).
- c. Umur ibu adalah umur penderita saat mulai dilakukan kuretase, dihitung dalam tahun penuh dengan pembulatan kebawah.
- d. Gravida adalah jumlah kehamilan yang pernah dialami oleh penderita.
- e. Paritas adalah jumlah kelahiran hidup atau bayi dengan usia kehamilan > 20 minggu atau berat badan > 500 gram yang pernah dialami penderita.

- f. Abortus adalah jumlah kelahiran janin dengan umur kehamilan < 20 minggu atau berat badan lahir < 500 gram yang pernah dialami penderita.

3.10 Etika Penelitian.

- a. Semua subyek penelitian ini memberikan persetujuan tertulis yang menyatakan kesediaannya untuk mengikuti penelitian
- b. Penelitian ini tidak menambah biaya yang dikeluarkan penderita.

3.11 Alur Penelitian .



BAB IV.

HASIL PENELITIAN

Dari hasil penelitian di RSUP. Dr Kariadi yang dilakukan secara prospektif dengan pendekatan cross sectional sejak Februari 2000 sampai dengan September 2002 didapatkan hasil :

4.1 Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia

Dari 135 sampel, 69 sampel dikeluarkan pada penelitian ini karena pada pengecatan Hematosilin-Eosin tidak didapatkan gambaran Villi korialis (hanya berisi jendalan darah). Dari 66 sampel jaringan abortus yang dilakukan pemeriksaan imunohistokimia didapatkan 9 sampel (13,6%) positif antigen toksoplasma dan 57 sampel (86,4%) tidak dijumpai antigen toksoplasma.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan Imunohistokimia.

Hasil pemeriksaan Imunohistokimia	Jumlah sampel
Positif antigen Tosoplasma	9 sampel (13,6%)
Negatif antigen Toksoplasma	57 sampel (86,4%)
Jumlah total	66 Sampel (100%)

4.2 Karakteristik penderita

Karakteristik wanita yang diteliti meliputi umur penderita, paritas, riwayat abortus sebelumnya, umur kehamilan, tingkat pendidikan. Data lengkap pada tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik penderita

Variabel	Rerata (SB)	n (%)	Toksoplasma positif n(%)
Umur penderita	32,03 (7,01.)		
Paritas			
0		21 (31,8)	4(44,4)
1		18 (27,3)	3(33,3)
2		11 (16,7)	1(11,1)
3		9 (13,6)	
4		5 (7,6)	1(11,1)
5 atau lebih		14 (21,2)	
Riwayat abortus			
0		52 (78,8)	9(100)
1		11 (16,7)	
2		2 (3)	
3		1 (1,5)	
Umur Kehamilan			
Trimester 1	10,31 ± 1,62	45 (68,2)	7(77,8)
Trimester 2	15,48 ± 2,56	21 (31,8)	2(22,2)
Tingkat pendidikan			
Buta huruf/ tidak sekolah		5 (7,6)	2 (22,2)
SD tidak tamat		4 (6,1)	
SD		11 (16,7)	
SLTP		20 (30,3)	3 (30,3)
SLTA		24 (36,4)	4 (44,4)
D3/S1		2 (3)	

Keterangan : SB = simpang baku

4.2.1 Umur penderita

Umur penderita termuda adalah 16 tahun dan umur tertua adalah 47 tahun, dengan rerata $32,03 \pm 7,01$.

4.2.2 Paritas penderita

Paritas penderita yang terendah adalah 0 dan yang tertinggi adalah 8, dengan rerata $1.53 \pm 1,61$.

4.2.3 Riwayat abortus

Riwayat abortus penderita terendah adalah 0 dan tertinggi adalah 3. Pada penelitian ini didapatkan 52 kasus (78,8%) tidak ada riwayat abortus. Semua kasus toksoplasma positif (9) didapatkan pada penderita yang belum pernah mengalami abortus tersebut.

4.2.4 Umur kehamilan

Umur kehamilan penderita yang terendah adalah 7 minggu dan tertinggi adalah 20 minggu, dengan rerata $11,95 \pm 3,11$. Pada penelitian ini didapatkan 7 penderita atau 77,8 % abortus terjadi pada trimester 1.

4.2.5 Tingkat pendidikan

Tingkat pendidikan terbanyak adalah SLTA / sederajat (36,6 %), dan yang tidak sekolah 7,6 %.

4.3 Faktor risiko

Faktor risiko terkenanya infeksi toksoplasma, riwayat kontak dengan kucing, kebiasaan makan sate, kebiasaan makan sate setengah matang, kebiasaan berkebun, kebiasaan mencuci tangan dengan sabun setelah memotong daging maupun setelah berkebun. Data lengkap tabel 5.

4.3.1 Kontak dengan kucing

Jumlah penderita yang kontak dengan kucing 54 orang (81,8%), 31 (47 %) kucing tersebut adalah milik tetangga dan 12 (18,2 %) kucing liar. Semua (9 kasus) pasien yang positif toksoplasma pada penelitian ini ada riwayat kontak dengan kucing.

4.3.2 Kebiasaan makan sate

Jumlah penderita yang senang makan sate 47 orang (71,2%) , 36 (54,5%) jenis sate ayam, dan 4 (6,1%) yang senang sate setengah matang.

Tabel 5. Faktor risiko

Variabel	n(%)	Toksoplasma (+) n(%)	Toksoplasma (-) n(%)
Kontak dengan kucing			
Ya	54 (81,8)	9(100)	45(78,9)
- Milik sendiri	11 (16,7)	2(22,2)	9 (15,8)
- Milik Tetangga	31 (47)	5(56,6)	26(45,6)
- Liar	12 (18,2)	2(22,2)	10(17,5)
Tidak	12 (18,2)		12 (18,2)
Sering Mengelus /tidur dengan kucing			
Ya	2 (3)		2(3)
Tidak	52 (78,8)	9(100)	43(75,4)
Ada tempat kotoran kucing khusus			
Ya	2 (3)	1(11,1)	1(1,8)
Tidak	64 (97)	8(89,9)	56(98,2)
Sejak kapan			
Sebelum menikah	21 (31,8)	3(33,3)	18(31,6)
Sebelum hamil, setelah menikah	14 (21,2)	2(22,2)	12(21,1)
Setelah hamil	1 (1,5)	1(11,1)	
Tidak tahu	18 (27,3)	3(33,3)	15(33,3)
Sering makan sate			
Ya	47 (71,2)	6(66,7)	41(71,9)
Tidak	19 (28,8)	3(33,3)	16(28,1)
Jenis sate			
Sate ayam	35 (53)	4(44,4)	31(54,4)
Sate kambing	9 (13,6)	2(22,2)	7(12,3)
Sate sapi	3 (4,5)		3(5,3)
Sate setengah matang			
Ya	4 (6,1)	1(11,1)	3(5,3)
Tidak	43 (65,2)	5(66,7)	38(66,7)
Mencuci tangan dengan sabun			
Setelah memotong daging			
Ya	61 (92,4)	8(88,9)	53(93,3)
Tidak	5 (7,6)	1(11,1)	4(7,0)
Setelah berkebudun			
Ya	28 (42,4)	2(22,2)	26(45,6)
Tidak	38 (57,6)	7(77,8)	31(54,4)

4.3.3 Kebiasaan mencuci tangan

Jumlah penderita yang mencuci tangan dengan sabun setelah memotong daging 61 (92,4%) dan yang mencuci tangan dengan sabun setelah berkebun 43 (65,2%).

4.4 Pengetahuan tentang toksoplasma

Jumlah penderita yang belum mendengar istilah toksoplasma 49(74,2%), penderita yang sudah pernah mendengar istilah toksoplasma 17(25,8%) , 10 (15,2%) mengetahui toksoplasma dari tenaga medis. 44 penderita (66,7%) belum mengetahui arti dari toksoplasmosis. Penderita yang tahu cara penularan toksoplasma 24 orang (36,4%).

Tabel 6. Pengetahuan tentang toksoplasma

Variabel	n(%)
Pernah mendengar toksoplasmosis	
Ya	17 (25,8)
Tidak	49 (74,2)
Sumber informasi	
Radio/Televisi	1 (1,5)
Koran/majalah	7 (10,6)
Tenaga medis	7 (10,6)
Teman/keluarga	2 (3)
Cara penularan	
Tahu	24 (36,4)
Tidak tahu	42 (63,6)
Akibat toksoplasmosis	
Tahu	27 (40,9)
Keguguran	18 (27,3)
Cacat bawaan	9 (13,6)
Tidak tahu	39 (59,1)
Pencegahan toksoplasmosis	
Tahu	25 (37,9)
Jauhi kucing	22 (33,3)
Makan daging matang	3 (4,5)
Tidak tahu	41 (62,1)

BAB V. PEMBAHASAN

Toksoplasmosis disebabkan oleh Toksoplasma gondii. Gejala toksoplasmosis umumnya tanpa gejala, ataupun ringan. Infeksi akut pada wanita hamil dapat menimbulkan penularan intrauterin atau transplasenta. Hal ini dapat mengakibatkan abortus spontan, *still birth*, kelainan bawaan.

Pada umumnya pemeriksaan serologi digunakan untuk mendeteksi toksoplasmosis. Karena relatif lebih mudah dan lebih murah., tetapi tidak bisa mendeteksi adanya toksoplasma di jaringan dan pada penderita dengan *immunocompromised*.

Pada penelitian ini didapatkan 9 (13,6%) positif toksoplasma pada jaringan abortus dengan pemeriksaan imunohistokimia. Dengan ditemukannya antigen toksoplasma pada jaringan abortus dapat dipastikan terjadi penyebaran toksoplasma transplasenta pada pasien tersebut dan toksoplasma sebagai penyebab terjadinya abortus, karena pemeriksaan imunohistokimia ini memiliki nilai spesifisitas 94,1% seperti yang dilaporkan di Yogyakarta dan 90,9 % di Polandia^{15,38}. Penyebab lain dari abortus perlu dicari pada 56 sampel (84,3%) yang tidak dijumpai toksoplasma pada jaringan abortusnya. Peneliti sebelumnya di RS Dr. Sardjito Yogyakarta mendapatkan 41,8 % positif. Perbedaan ini disebabkan karena pada penelitian terdahulu kriteria inklusinya adalah penderita abortus spontan dengan faktor risiko toksoplasmosis.

Pada penelitian ini didapatkan 9 kasus (100%) toksoplasma positif pada penderita yang tidak pernah ada riwayat abortus sebelumnya. Sehingga tetap perlu dipikirkan adanya infeksi toksoplasma pada penderita yang belum pernah menderita abortus sebelumnya, tidak hanya pada kasus abortus habitualis.

Pada penelitian ini didapatkan abortus sebagian besar terjadi pada trimester I (77,8%) hal ini menunjukkan bahwa semakin muda usia kehamilan ibu terinfeksi toksoplasma, cenderung semakin besar kejadian abortus. Hasil ini sesuai dengan peneliti sebelumnya, yang menyatakan semakin muda usia kehamilan semakin besar risiko yang dialami oleh hasil konsepsi walaupun penyebarannya transplasenta kecil^{7,36}. Penyebaran transplasenta dilaporkan 55% terjadi pada ibu yang tidak memperoleh pengobatan dan 25 % pada ibu yang mendapat pengobatan selama hamil³⁷.

Kontak dengan kucing merupakan salah satu faktor risiko terinfeksi toksoplasma, pada penelitian ini juga didapatkan semua (9) pasien yang positif toksoplasma ada riwayat kontak dengan kucing^{5-7,14,22}.

Pada penelitian ini sebagian besar penderita (74,2%) belum pernah mendengar istilah toksoplasma, cara penularan, akibat yang ditimbulkan.

Penelitian ini tidak membandingkan dengan teknik pemeriksaan lain sehingga tidak dapat dinilai spesifisitas dan sensitifitasnya.

BAB VI.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian di RSUP. Dr Kariadi yang dilakukan secara prospektif dengan pendekatan cross sectional sejak Februari 2000 sampai dengan September 2002 didapatkan hasil :

1. Insiden toksoplasmosis pada penderita abortus spontan dengan teknik pemeriksaan Imunohistokimia 13,6%.
2. Abortus terjadi pada trimester 1 sebanyak 7 kasus dan 2 kasus pada trimester 2.
3. Pengetahuan penderita mengenai penyakit toksoplasma masih rendah; belum pernah mendengar toksoplasmosis 49%, tidak tahu cara penularan 63,61%, tidak tahu akibat yang ditimbulkan 59,1%, tidak tahu cara pencegahan 62,1%.

BAB VII.

SARAN

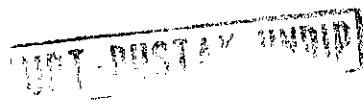
1. Perlu penelitian lanjutan dengan melibatkan jumlah kasus yang lebih besar (multisenter); menggunakan cara pemeriksaan lain misalnya serologi atau teknik *polymerase chain reaction* dengan desain penelitian analitik.
2. Perlu penyebar luasan informasi toksoplasmosis pada ibu hamil/ calon ibu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gandahusada S. Penanggulangan toksoplasmosis dalam meningkatkan kualitas sumber daya manusia. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Juni 1995;45(5):265-370.
2. Widiasmoko S, Hadijanto B. Kejadian toksoplasmosis pada wanita hamil di RSUP Dr Kariadi Semarang. PIT XI POGI 1999.
3. Hartono T. Penemuan Toksoplasma gondii dari wanita-wanita keguguran di RSCM dan RSHS. *Majalah Kesehatan Indonesia*. 1994;12(22):793-9
4. Babill-Stray-Pederson. Infeksi TORCH pada Kehamilan . Dalam : Forum Dianosticum No 6, 1977:1-6
5. Indrawati A. Toksoplasmosis, Aspek kesehatan dan Penatalaksanaannya. Program pasca sarjana Institut Pertanian Bogor. [On-line]: URL.http://rudyc.tripod.com/sem1_012/agustin_indrawati.htm.2002.
6. Hadisaputro H.Epidemiologi Toksoplasmosis dalam Kehamilan.Dalam: Kristanto et.al Editor. Simposium Kemajuan Obstetri III Toksoplasmosis dalam Kehamilan dan Induksi Persalinan.Semarang 2001.
7. Gandahusada S. Toksoplasmosis: Epidemiologi, Patogenesis dan Diagnostik. Dalam : Gandahusada, Sutanto I. Kumpulan makalah simposium toksoplasmosis BP FKUI, Jakarta, 1990:1-10
8. Dachlan EG. Problematika Diagonosis Toksoplasmosis dalam Kehamilan . Dalam: Kristanto et.al Editor. Simposium Kemajuan Obstetri III Toksoplasmosis dalam Kehamilan dan Induksi Persalinan.Semarang 2001.
9. Kartodarsono S. Abortus di Rumah Sakit dokter Kariadi Semarang (Skripsi): Dalam pendidikan keahlian obstetri dan ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, 1983.
10. Lucky SW, Andon H, Enud JS, Santoso C. Status Imunitas Humoral TORCH dan Imunitas Seluler pada Abortus Habitualis dalam kurun waktu 5 tahun (1990-1995). Kumpulan makalah POGI X, Padang. 1996.
11. El-Mowafi DM. Bleeding in Early Pregnancy, Abortion. Matweb obstetric simplified. [on-line]; URL. http://matweb.hcuge.ch/El_Mowafi/Bleeding_in_early_pregnancy.htm.1999.

12. Mochtar AB. TORCH dalam Kehamilan. Dalam : Hadijanto B, et al. Editor. Simposium sehari wanita dalam kehamilan dan menopause. RSB Kusuma, Semarang, 2001.
13. Chandra G. Toxoplasma Gondii: Aspek Biologi, Epidemiologi, Diagnosis, dan Penatalaksanaannya. Medika. 2001;5 (27):297-304
14. Hadijanto B. Toksoplasmosis pada Kehamilan. Dalam: Kristanto et.al Editor. Simposium Kemajuan Obstetri III Toksoplasmosis dalam Kehamilan dan Induksi Persalinan.Semarang 2001.
15. Umayah, Umniyati S, Sofowan. Immunocytochemistry and Serological Diagnosis for Detection of Toxoplasmosis on Spontaneous Abortion. Yogyakarta, 1999
16. Winarto. Diagnosis dini Toksoplasmosis dengan Antibody Monoklonal. Dalam : Tjahyono, Susilaningsih, Azhar TN, Editor. Aplikasi Biomolekuler dalam Diagnosis Klinik dan Penelitian. BP UNDIP Semarang, 2000:30-9
17. Putra ST. Pewarnaan Imnuhistologik dan Imunositopatologik untuk Penelitian Kedokteran .Fakultas kedokteran Universitas Airlangga.1993.
18. Putra ST. Peran Pemeriksaan Imunositokimia dibidang Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.1993.
19. Tjahyono. Imunohistokimia dalam Diagnosis Klinik. Dalam: Tjahyono, Susilaningsih, Azhar TN, Editor. Aplikasi biomolekuler dalam diagnosis klinik dan penelitian . BP UNDIP Semarang, 2000:40-6
20. Stites DP, Roddgers RPC, Folds JD, Schimitz J. Immunologic Laboratory Tests, Clinical laboratory Methods for Detection of Antigen & Antibodies. In : Stites DP, Terr AI, Parslow TG, Editors. Medical immunology. 9th ed. Stamford USA: Prentice-Hall International Inc, 1997:11-53
21. Jenum PA, Stray Pederson B, Melby KK, et all. Incidence of Toxoplasma gondii Infection in 35.940 Pregnant women in Norway and Pregnancy outcome for Infected Women. Journal of Clinical Microbiology 1998;36(10):2900-6
22. Dubey JP. Toxoplasma gondii. <http://osbsutmb.edu/microbook/ch084.htm>.1999
23. Anonim. Toxoplasma gondii . <http://ww.cdfound.toit/HTML/tgl.htm>

24. Zaman V. Atlas parasitologi Kedokteran . Hipokrates, 1989.
25. Dupouy-Camet J. Toxoplasmosis Immunopathogenesis of Toxoplasmosis in Pregnancy. <http://www.users.imagnet.fr/~dupouyca/reftoxo.html>
26. Pusponegoro HD, Boedjang RF. Toksoplasmosis pada bayi dan anak. Dalam : Gandahusada, Sutanto I. Kumpulan makalah simposium toksoplasmosis. BP FKUI, Jakarta, 1990:47-58
27. Naeye RL. Disorders of Placenta, Fetus and Neonate : Diagnosis and Clinical Significance. Mosby year book, 1992.211-4
28. Chandra G. Toksoplasmosis. Efikasi Pengobatan dengan Spiramisin 3 x 10⁶ IM (3MIU). Dalam : Kristanto et.al Editor. Simposium Kemajuan Obstetri III Toksoplasmosis dalam Kehamilan dan Induksi Persalinan.Semarang 2001.
29. Monif GRG. TORCH Syndrome. IDI Publication.1993
30. Anonim. Aborsi ditinjau dari sudut Medik Psikososial dan etika Kristen.BPK-Penabur, 1996. <http://www.penabur.or.id/kpsjkt/p4/6k/aborsi.htm>
31. Stoval TG, McCord ML. Early Pregnancy oss and Ectopic Pregnancy. In : Berek JS, Adashi EY, Hillard PA, editors. Novak's gynecology. 12th ed> Baltimore USA: Williams & Wilkins, 1996:487-523
32. Saifudin AB, Adriaansz G, Wiknjastro GH, Waspodo J. Buku Acuan Nasional pelayanan Kesehatan Maternal dan Neonatal. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawiroharjo, Jakarta, 2000
33. Adiyono W, Sutomo, Hardian. Immunologi Kehamilan profil TNF- α Pasca abortus inkompletus. Somposium Infertilitas PIT XIII-POGI Malang.2002
34. Mason DY. Immnucytochemical analysis of Human Tissue. In : McGee JOD, Isaccson PG, Wright NA, editors. Oxford textbook of pathology. Oxford university pers, Oxford, New york , Tokyo. 1992;2275-84
35. Pierce Chemical Technical Library, [Http:// www.piercenet.com](Http://www.piercenet.com)
36. Lopez A, Vance JD, Mariana W, Navin TR, Jones JL. Preventing Congenital Toxoplasmosis. Center for Disease Control and Prevention, Morbidity and Mortality Weekly report. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr4902a5.htm> . 2000.



37. Sciammarella J. Toxoplasmosis. <http://www.emedicine.com/emerg/topic601.htm>
, July 2002, Vol 3,7
38. Cisak E. Immunoperoxidase Test in the Diagnosis of Toxoplasmosis.
<http://galen.imw.lublin.pl/users/gmf/aaem9736.htm> .Original articles Ann Agric
Environ Med 1997,4,243-7