



**PENGARUH VAKSINASI BCG TERHADAP JUMLAH SEL
DATIA LIEN MENCIT BALB/C YANG DIBERI STRESOR
RENJATAN LISTRIK DAN TERINFEKSI LISTERIA
MONOCYTOGENES**

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi persyaratan
dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana
Fakultas Kedokteran

Oleh :

**Marina Ratnasari
G2A003114**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG**

2007

**THE ROLE OF BCG VACCINATION ON THE NUMBER OF SPLEEN'S MULTINUCLEATED
GIANT CELL OF BALB/C MICE AGAINST ELECTRIC FOOT STRESS AND LISTERIA
MONOCYTOGENES**

Marina Ratnasari¹⁾, Hermina Sukmaningtyas²⁾, Dwi Pudjonarko²⁾, Noor Yazid³⁾

ABSTRACT:

Background: One of stress' impacts to health is the decrease of cellular immunity. BCG vaccination can enhance cellular immunity response. The aim of this study was to find out the role of BCG vaccination on cellular immunity on Balb/C mice against electric foot stress (EFS) and *Listeria monocytogenes*, examined from the number of spleen's multinucleated giant cell (MGC).

Methods: This study adapted laboratory experimental and Post Test Only Control Groups Design. Eighteen female BALB/c mice were divided into three groups and received standard laboratory diet. The first group (control/K) received no other additional treatment. The second group (Stress/S) received stress from EFS from day 12th until day 21st. The third group (stress-BCG/SB) received intra peritoneal injection of 0.1cc BCG at day 1st and 11th and stressed with EFS from day 12th until day 21st. At day 21st, all groups were injected intravenously with 10⁴ live *Listeria monocytogenes* and sacrificed at day 26th. The spleen was taken. The MGC counting was done on 100 fields with microscope, 400 times magnification. The data were analyzed with One-Way ANOVA and Post Hoc Test Bonferroni.

Result: There were significant differences on the number of MGC between K and S group ($p=0,012$), between K and SB group ($p=0,000$), and between S and SB ($p=0,002$). The lowest MGC number was in SB group while the highest was in K group.

Conclusion: BCG vaccination significantly decreases the number of MGC in the spleen of Balb/C mice against EFS and *Listeria monocytogenes*.

Key words: BCG, Stress, MGC

¹⁾ Undergraduate student, Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

²⁾ Lecturer, Medical Physic Department, Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

³⁾ Lecturer, Pathology Anatomy Department, Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

PENGARUH VAKSINASI BCG TERHADAP JUMLAH SEL DATIA LIEN MENCIT BALB/C
YANG DIBERI STRESOR RENJATAN LISTRIK DAN TERINFEKSI LISTERIA
MONOCYTOGENES

Marina Ratnasari¹⁾, Hermina Sukmaningtyas²⁾, Dwi Pudjonarko²⁾, Noor Yazid³⁾

ABSTRAK

Latar belakang : Salah satu akibat stres adalah penurunan imunitas seluler. Vaksin BCG dapat meningkatkan imunitas seluler. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh vaksinasi BCG terhadap imunitas seluler yang diamati dari jumlah sel datia lien mencit *Balb/C* yang stres dan terinfeksi *Listeria monocytogenes*.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan *the post test only control group design*. Delapan belas ekor mencit dibagi menjadi tiga kelompok (masing-masing enam ekor) dan mendapat pakan standar. Kelompok pertama (Kontrol/K) tidak mendapat perlakuan tambahan. Kelompok kedua (Stres/S) mendapat renjatan listrik pada hari ke-12 sampai hari ke-21. Kelompok ketiga (Stres-BCG/SB) mendapat vaksin BCG 0,1 cc intraperitoneal pada hari ke-1 dan hari ke-11 serta renjatan listrik pada hari ke-12 sampai hari ke-21. Ketiga kelompok diinfeksi *Listeria monocytogenes* 10^4 intravena pada hari ke-21. Pada hari ke-26 mencit dibunuh. Lien diambil dan dilakukan penghitungan sel datia dalam 100 lapang pandang mikroskop, perbesaran 400 kali. Data dinalisa menggunakan *One-Way ANOVA* dan *Post Hoc Test Bonferroni*.

Hasil : Terdapat perbedaan bermakna jumlah sel datia K dengan S ($p = 0,012$), K dengan SB ($p = 0,000$) serta S dengan SB ($p=0,002$). Jumlah sel datia terendah ada pada SB, jumlah tertinggi ada pada S.

Kesimpulan : Vaksin BCG menurunkan secara bermakna jumlah sel datia lien mencit yang stres dan terinfeksi *Listeria monocytogenes*.

Kata kunci : BCG, stres, sel datia.

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

²⁾ Staf Pengajar Bagian Fisika Medik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

³⁾ Staf Pengajar Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

PENDAHULUAN

Stres yang berjalan lama dapat menyebabkan gangguan pada kesehatan. Pada penelitian dengan hewan coba, telah diketahui bahwa stres dapat menyebabkan gangguan pada pengaturan sistem imun terutama respons imunitas seluler. Dua jalur utama yang dapat merubah pengaturan fungsi imun pada stres yang berjalan kronik adalah *Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis* (HPA Aksis) dan *Sympathetic-Adrenal-Medullary Axis* (SAM Aksis).ⁱ

Respons tubuh terhadap stres melalui HPA Aksis adalah dengan meningkatkan sekresi hormon glukokortikoid oleh korteks adrenal. Hormon ini dapat mempengaruhi perubahan ekspresi gen berbagai macam sel imun, antara lain makrofag dan sel limfosit T. Sedangkan melalui SAM Aksis, akan disekresikan katekolamin yang dapat menyebabkan kekacauan pengaturan sistem imun. Regulasi yang terjadi antara HPA Aksis dan SAM Aksis pada keadaan stres akan menyebabkan peningkatan sintesis sel Th2. Akibatnya, terjadi pergeseran keseimbangan respons sistem imunitas ke arah respons imunitas humoral yang menyebabkan terjadinya penurunan sitokin Th1 dan juga Interferon- γ (IFN- γ) yang akhirnya akan menyebabkan kekacauan dalam pengaturan respons imunitas seluler.ⁱⁱ

Dalam penelitian mengenai infeksi bakteri intraseluler, *Listeria monocytogenes* telah sering digunakan sebagai model penelitian. Bakteri ini merupakan jenis bakteri intraseluler yang memiliki kemampuan untuk menghindari fagositosis dan bertahan hidup dalam makrofag. Pertahanan tubuh yang paling utama terhadap infeksi *Listeria monocytogenes* adalah melalui respons imunitas seluler, yaitu melalui sel T dan makrofag. Makrofag yang diaktifkan oleh antigen *Listeria* akan berperan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) dan memproduksi IFN- γ serta IL-12 yang akan mendorong diferensiasi sel T menjadi sel Th1. Mekanisme ini akan memacu pembunuhan mikroba.ⁱⁱⁱ

Vaksin Baccile Calmette-Guerin (BCG) merupakan bentuk mutan dari *Mycobacterium bovis* yang diisolasi oleh Calmette dan Guerin dengan mengkultur kembali pada medium *glycerol potato bile*. Subkultur dari isolasi yang asli dikenal sebagai *Mycobacterium bovis* strain BCG dan digunakan untuk vaksinasi dan terapi kanker. Vaksin BCG termasuk jenis vaksin hidup yang dilemahkan.^{iv} Vaksin BCG dapat mengubah beberapa komponen respons imun, mengubah beberapa tipe sel dan mendorong efek positif (stimulasi) atau efek negatif (inhibisi) tergantung penggunaannya. Djamiatun dkk melaporkan bahwa pemberian 0,1 cc BCG dengan booster 10 hari berikutnya dengan dosis sama akan meningkatkan

secara bermakna kemampuan fagositik dan daya bunuh makrofag lien terhadap *Staphylococcus aureus* dan meningkatkan produksi TNF- α dari makrofag peritoneal.⁵ Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa pemberian BCG *in vivo* akan meningkatkan kemampuan makrofag sebagai APC yang ditunjukkan oleh tingginya kemampuan limfosit T untuk berikatan dengan makrofag.⁶

Pada penelitian terdahulu telah ditemukan bahwa pemberian stres selama 14 hari pada mencit Balb/C yang terinfeksi *Listeria monocytogenes* menyebabkan munculnya mikroabses pada gambaran histopatologi lien mencit.⁷ Mikroabses terbentuk akibat penurunan aktivitas makrofag karena adanya stres.

Vaksin BCG sebagai imunomodulator diharapkan dapat meningkatkan imunitas seluler mencit stres yang terinfeksi *Listeria monocytogenes*. Indikator dari aktivitas sistem imunitas seluler yang digunakan dalam penelitian ini adalah jumlah sel datia dalam lien. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh vaksinasi BCG terhadap jumlah sel datia lien mencit Balb/C yang stres dan terinfeksi *Listeria monocytogenes*. Lien dipilih sebagai organ yang dievaluasi karena organ ini merupakan organ limfoid terbesar dan berperan penting dalam pertahanan mikroorganisme yang menerobos masuk ke dalam sirkulasi. Lien memiliki jenis pembuluh darah khusus yang memungkinkan antigen dapat berkontak langsung dengan sejumlah makrofag.⁸ Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi lebih lanjut mengenai pengaruh stres terhadap sistem imun dan peran vaksin BCG dalam meningkatkan imunitas seluler.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan *The Post-test Only Control Group Design*.

Sampel penelitian adalah 18 ekor mencit betina strain *Balb/C* usia 6-8 minggu dengan berat badan 20-25 gram, bergerak aktif dan tidak ada kelainan fisik. Sebelum digunakan dalam penelitian, mencit diadaptasikan terlebih dahulu selama 1 minggu. Selama dalam pemeliharaan mencit diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Selanjutnya mencit dibagi menjadi 3 kelompok secara acak, masing-masing terdiri dari 6

ekor yaitu : kelompok Kontrol, kelompok Stres dan kelompok Stres-BCG. Masing-masing kelompok dikandangan secara individual dan mendapatkan pakan standar yang sama.

Kelompok Kontrol hanya mendapatkan makanan standar. Kelompok Stres mendapatkan makanan standar serta mendapatkan rangsang stres menggunakan *electric foot shock* (EFS) mulai hari ke-12 sampai 21. Pada kelompok ketiga, selain mendapatkan makanan standar, mencit mendapat vaksinasi BCG pada hari ke-1 dan hari ke-11 secara intraperitoneal dengan dosis 0,1 cc dan juga mendapatkan rangsang stres menggunakan EFS mulai hari ke-12 sampai hari ke-21.

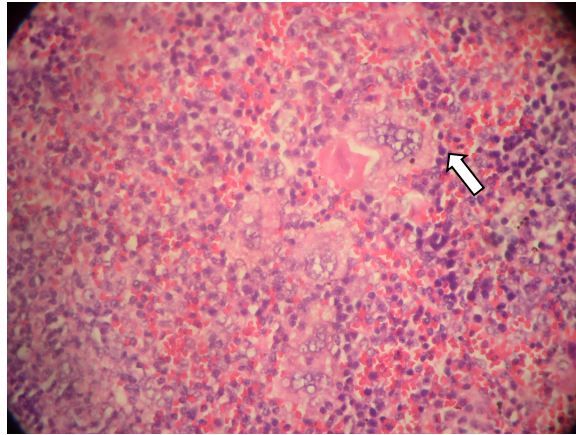
Pada hari ke-21 dilakukan injeksi imunogen *Listeria monocytogenes* secara intravena sebanyak 10^4 pada kelompok pertama, kedua dan ketiga. Lima hari kemudian mencit dibunuh. Organ lien diambil secara aseptik dan dibuat blok parafin untuk dilakukan pemeriksaan histopatologis. Pada potongan jaringan yang akan diperiksa dilakukan pengecatan dengan Hematoksilin-Eosin (HE). Pengamatan dilakukan melalui mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Perhitungan sel datia dilakukan pada 100 lapang pandang.

Data yang diperoleh adalah data primer hasil pengamatan mikroskopik. Data diolah dengan program SPSS 15.00 *for Windows*. Normalitas data diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov* dilanjutkan dengan *One-Way ANOVA*. Besarnya perbedaan masing-masing kelompok dianalisis lebih lanjut dengan *Post Hoc Test Bonferroni*.

HASIL

Pada pengamatan preparat dengan mikroskop perbesaran 400 kali, didapatkan sel datia pada lien mencit pada kelompok Kontrol, kelompok Stres dan kelompok Stres-BCG

dengan jumlah yang bervariasi. Jumlah sel datia yang dihitung adalah sel datia yang berbatas tegas serta memiliki inti multipel yang nampak jelas tersebar atau berkumpul pada bagian tengah sel.



Gambar 1. Sel datia pada lien (perbesaran 400 kali)

Tabel 1. Data deskriptif jumlah sel datia

Kelompok	N	Rerata	Std. Deviasi	Minimum	Maksimum
Kontrol	6	2,08	0,14	1,90	2,24
Stres	6	1,86	0,07	1,75	1,98
Stress+BCG	6	1,57	0,11	1,48	1,79

Dapat terlihat pada tabel 1 bahwa pada kelompok Kontrol, sel datia yang terbentuk lebih banyak dibandingkan kelompok Stres maupun kelompok Stres-BCG. Kelompok Stres-BCG memiliki jumlah sel datia paling sedikit dibandingkan dengan kelompok yang lain.

Hasil uji normalitas data dengan *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan bahwa distribusi data normal dengan $p = 0,200$ untuk kelompok Kontrol ; $p = 0,054$ untuk kelompok Stres dan $p = 0,200$ untuk kelompok Stres-BCG. Analisis uji beda dilakukan dengan *One-Way ANOVA* dan diperoleh nilai $p = 0,000$.

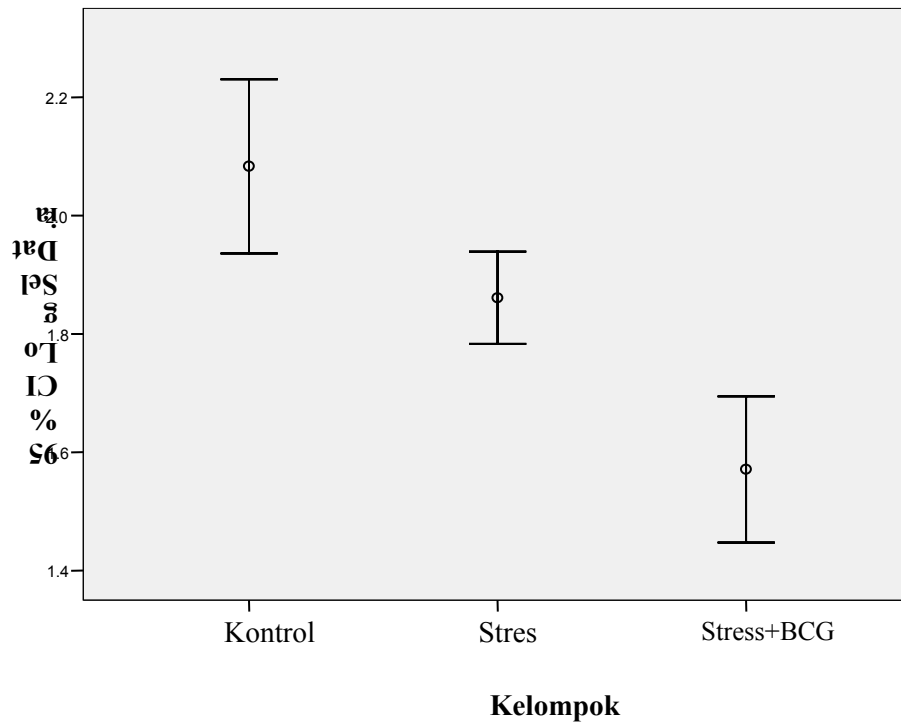
Melalui uji *Bonferroni*, didapatkan perbedaan bermakna antar semua kelompok perlakuan. Jumlah sel datia pada kelompok Kontrol secara bermakna lebih banyak daripada kelompok Stres ($p = 0,012$). Jumlah sel datia pada kelompok Kontrol secara bermakna lebih banyak daripada kelompok Stres-BCG ($p = 0,000$). Jumlah sel datia pada kelompok Stres secara bermakna lebih banyak daripada kelompok Stres-BCG ($p = 0,002$).

Tabel 2. Hasil uji *Bonferroni* untuk masing-masing kelompok percobaan.

Jumlah sel datia pada lien mencit

<i>Post Hoc Test Bonferroni</i>	Rerata	Kontrol	Stres	Stres-BCG
Kontrol	2,0832	-	$p = 0,012^*$	$p = 0,000^*$
Stres	1,8609	$p = 0,012^*$	-	$p = 0,002^*$
Stres+BCG	1,5710	$p = 0,000^*$	$p = 0,002^*$	-

*Perbedaan rerata bermakna pada $p < 0.05$



Gambar 2. Distribusi varians jumlah sel datia antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan keseluruhan hasil yang didapat, dapat disimpulkan bahwa vaksinasi BCG menyebabkan jumlah sel datia yang terbentuk dalam lien mencit *Balb/C* yang stres dan terinfeksi *Listeria monocytogenes* menjadi sedikit.

PEMBAHASAN

Sesuai dengan yang telah dikemukakan sebelumnya, stres melalui HPA dan SAM aksis akan menyebabkan pelepasan hormon glukokortikoid dan katekolamin yang akhirnya akan menyebabkan penurunan sintesis Th1 dan menggeser keseimbangan sistem imun ke arah imunitas humoral.

Pada saat *Listeria monocytogenes* menginfeksi makrofag, makrofag merespons dengan melepaskan IL-12. Selanjutnya IL-12 berikatan dengan sel Th1 yang tugas pokoknya adalah menstimulasi respons imun seluler untuk melawan organisme intraseluler. Perjalanan imunitas yang diperantarai limfosit T ini dapat dibagi menjadi 3 tahap yaitu fase pengenalan, aktivasi, dan fase efektor. Pada fase pengenalan terjadi penelanan bakteri oleh makrofag yang kemudian diproses dan disajikan pada limfosit T helper. Limfosit T helper akan teraktivasi, dan pada fase efektor melepaskan sitokin, antara lain IFN- γ , IL-2, IL-3, dan limfotoksin. *Listeria monocytogenes* dapat memproduksi enzim-enzim yang membuatnya mampu menghindari proses fagositosis, antara lain α dan β listeriolisin. Enzim ini dapat merusak eritrosit, trombosit dan makrofag serta dapat pula merusak membran fagosom. Akibatnya, kuman dapat hidup dalam sitoplasma makrofag dan menjadi resisten terhadap fagositosis. Untuk membunuh kuman, mencegah penyebaran kuman dan mencegah kerusakan jaringan yang luas, sel-sel imun membentuk granuloma di sekitar makrofag yang terinfeksi. Lapisan matriks ekstraseluler menutup lingkungan mikro pada sel yang terinfeksi serta melindungi jaringan dari respons inflamasi yang bersifat destruktif.⁹

Pembentukan granuloma merupakan reaksi hipersensitivitas lambat. Limfosit T yang telah teraktivasi melepaskan limfokin yang akan menarik lebih banyak makrofag ke tempat lesi. Secara bersamaan, makrofag mengalami perubahan bentuk menjadi sel epiteloid, yang merupakan salah satu stadium diferensiasi makrofag yang fungsi utamanya sekresi.⁹ Sel-sel dalam granuloma mensekresi lisozim, *angiotensin converting agent* dan mungkin juga proteinase yang berperan dalam proses *antimicrobial resistance*

dan katabolisme jaringan. Tanpa pembentukan granuloma, infeksi mikroba dapat meluas dan mematikan.⁹

Pada penelitian sebelumnya, telah dibuktikan bahwa pada mencit yang terinfeksi *Listeria monocytogenes* secara intravena, gambaran histologis lien berkembang dari pengumpulan netrofil di periarteriolar menjadi granuloma dengan ukuran yang berbeda-beda yang terlokalisasi di daerah pulpa putih pada hari ke-14 setelah infeksi.¹⁰

Secara mikroskopis, granuloma terdiri dari timbunan makrofag yang telah mengalami fusi, limfosit, dan kadang sel plasma. Sel makrofag yang telah mengalami fusi tersebut disebut sebagai sel raksasa berinti banyak (*multinucleated giant cell*), yang disebut juga sebagai sel datia.¹¹ Mekanisme pembentukan sel datia hingga saat ini belum diketahui secara pasti. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fusi makrofag antara lain diinduksi oleh IFN- γ , TNF- α , efek tidak langsung dari produk mikroba (misalnya mycobacterium) serta dipengaruhi pula oleh tingkat maturasi monosit menjadi makrofag.^{9, 12 - 14}

Pada pemantauan perkembangan pembentukan sel datia pada alveolitis, melalui biopsi paru didapatkan gambaran histopatologi yang berkembang dari pengumpulan makrofag pada tempat lesi, peningkatan sekumpulan limfosit, pembentukan sel raksasa berinti banyak, penegasan batas lesi dan pada akhirnya terbentuklah granuloma yang matang.¹⁵ Dengan demikian, sel datia dianggap sebagai awal terbentuknya granuloma. Dengan pembentukan sel datia, penyebaran infeksi *Listeria monocytogenes* dapat dicegah dan kerusakan jaringan akibat proses inflamasi dapat dihindari. Pada kelompok Kontrol, jumlah sel datia yang terbentuk relatif tinggi. Hal ini dapat diartikan sebagai adanya

aktivitas respons imunitas seluler yang adekuat, sehingga masih mampu melakukan fusi sel dan mencegah penyebaran infeksi.

Stres menyebabkan penurunan respons imunitas seluler yang menyebabkan penurunan sintesis Th1 juga disertai penurunan IFN- γ , sedangkan salah satu peran IFN- γ dalam pembentukan sel datia adalah menginduksi fusi sel makrofag. Akibat adanya mekanisme ini, sel datia yang terbentuk pada kelompok Stres relatif sedikit dibandingkan kelompok Kontrol. Hal ini didukung oleh penelitian terdahulu yang menemukan bahwa pembentukan sel datia bisa dihambat dengan pemberian antibodi terhadap IFN- γ .^{13,14} Penelitian mengenai pembentukan granuloma yang diinduksi oleh BCG telah membuktikan bahwa IFN- γ berperan penting untuk pembentukan struktur protektif yang efektif.⁹

Inokulasi BCG melalui jalan nafas telah terbukti mampu meningkatkan sitokin tipe 1 yaitu IL-12, IFN- γ , TNF- α . *Mycobacterium bovis* BCG dapat mengubah sekresi sitokin populasi sel T CD4+ Natural Killer yang semula memproduksi IL-4 menjadi memproduksi IFN- γ melalui induksi IL-12.¹⁶ Dengan adanya peningkatan sitokin-sitokin ini, pengaruh stres seharusnya dapat dinetralisir dan kemampuan fusi sel dikembalikan sehingga diharapkan jumlah sel datia yang terbentuk lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok Stres. Namun hal ini tidak ditemukan dalam hasil penelitian ini. Jumlah sel datia kelompok Stres-BCG justru menurun secara bermakna dibandingkan dengan kelompok Stres. Salah satu hal yang dapat menyebabkan hal ini terjadi adalah adanya peningkatan TNF- α setelah vaksinasi BCG. Pada penelitian sebelumnya, telah terbukti bahwa TNF- α dapat mengontrol replikasi kuman dan berperan penting dalam pembunuhan bakteri. Pada mencit yang mengalami defisiensi TNF- α , pertumbuhan

bakteri tidak bisa terkontrol dan abses terbentuk.⁹ Produksi TNF- α yang meningkat akibat pemberian vaksin BCG dimungkinkan meningkatkan kemampuan sel-sel imun dalam membunuh kuman. Kuman yang belum dapat dibunuh dilokalisasi dengan cara membentuk sel datia. Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukan penghitungan kuman pada lien mencit, sehingga tidak dapat diketahui secara kuantitatif kemampuan vaksinasi BCG dalam mengontrol pertumbuhan bakteri.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini, diperoleh kesimpulan bahwa vaksin BCG menyebabkan jumlah sel datia yang terbentuk dalam lien mencit yang stres dan terinfeksi *Listeria monocytogenes* menjadi sedikit.

Hal ini tidak sesuai dengan hipotesis penelitian yang menyatakan bahwa vaksinasi BCG dapat meningkatkan jumlah sel datia dalam lien mencit Balb/C yang stres dan terinfeksi *Listeria monocytogenes*.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh tingkat produksi TNF- α dalam pembunuhan kuman intraseluler serta hitung kuman pada lien mencit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

- dr. Hermina Sukmaningtyas, M.Kes ; dr. Dwi Pudjonarko, Sp.S serta dr. Noor Yazid, Sp.PA selaku pembimbing.
- Kepala dan Staf Laboratorium Biokimia serta Kepala dan Staf Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atas bantuan dan kesempatan yang diberikan untuk menggunakan fasilitas laboratorium untuk terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Padgett DA, Glaser R. How Stress influences the immune response. *TRENDS in immunology*. August 2003; 24(8):444-8.
2. Russo-Marie F. Macrophages and the glucocorticoids. *J Neuroimmunol* 1992;40:281-6.
3. Baratawidjaja KG. *Imunologi dasar*. Ed 6. Jakarta : Balai Penerbitan FKUI; 2004.
4. Department of Health and Services. TB elimination: BCG vaccine. Available from URL: <http://www.cdc.gov/tb>.
5. Djamiatun K, Dharmana E, Kristina T, Indar R. Pengaruh vitamin A dan BCG pada produksi TNF- α dan aktivitas fagositik makrofag terhadap *Staphylococcus aureus*. Laporan akhir tahun I Risbin Iptekdok, 1998.
6. Stites D, Terr A, Parslow T. *Basic and clinical immunology*. 8th ed. Connecticut: Appleton&Lange; 1994. p. 97-100.
7. Angraini I, Darmana E. Pengaruh pemberian stresor 14 hari terhadap jumlah abses lien mencit *Balb/C* yang diinfeksi *Listeria monocytogenes*. Artikel karya tulis ilmiah; 2004.
8. *American journal of pathology*. 2001;158:179-88.
9. Hogan HL, Markofski W, Bock A, Barger B, Morrissey JD, Sandorand M. *Mycobacterium bovis* BCG-induced granuloma formation depends on gamma interferon and CD40 ligand but does not require CD28. 2001 Apr; 69(4):2596-603. Available from URL: <http://www.iai.asm.org>.
10. Bhardwaj V, Kanagawa O., Swanson Paul E, Unanue ER. Chronic *Listeria* infection in SCID mice: requirements for the carrier state and the dual role of T cells in transferring protection or suppression. *J Immunol*. 1998;160:376-84.
11. Robbins SL, Kumar V. *Buku ajar patologi*. Ed 4. Jakarta : EGC ; 1995.
12. Bender A. M&CP-5: Granulomas. Available from URL: <http://cpmcnet.columbia.edu/dept/ps/2007/mcp/old/MCP5.pdf>.
13. Möst J, Spötl L, Mayr G, Gasser A, Sarti A, Dierich MP. Formation of multinucleated giant cells in vitro is dependent on the stage of monocyte to

- macrophage maturation. 1997 Jan 15; 89(2):662-671. Available from URL:<http://bloodjournal.hematologylibrary.org/cgi/content/full/89/2/662-671>.
14. Gasser A, Möst J. Generation of multinucleated giant cells in vitro by culture of human monocytes with *Mycobacterium bovis* BCG in combination with cytokine-containing supernatants. 1999 Jan; 67(1):395-402. Available from URL: <http://iai.asm.org/cgi/content/abstract/67/1/395>.
 15. Granuloma development. Available from URL: <http://www.granuloma.homestead.com/Development.html>.
 16. Emoto M, Emoto Y, Buchwalow IB, Kauffmann SH. Induction of IFN-gamma-producing CD4⁺ natural killer T cells by *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette Guerin. Eur J Immunol 1999 Feb; 29(2):650-9.

