

Hasil pemeriksaan seroimunologi TORCH pada wanita infertil

Budi Mulyono

Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada/
RSUP Dr. Sardjito, Yogyakarta

ABSTRACT

Budi Mulyono - Seroimmunological aspect of TORCH infection in infertile woman.

Infertility is a problem among child bearing age couples. TORCH infection as one of causative factors in infertility must be investigated of its role. The objective of this study is to compare TORCH antibodies seropositivity of infertile cases to pregnant women. Sera from 67 infertile women and 21 pregnant women were used for the study. The results are as follows: the mean of IgG anti-CMV and IgG anti-HSV2 titre of infertile group are significantly higher than titre of pregnant group. The individual who has been exposed to HSV-2 will have a higher risk to infertility than who has not. Coincidence infections of TORCH are similar between two groups. It can be concluded that problems of TORCH in infertility must be inferred to any other related factors.

Key Word: TORCH - infertility - seroimmunological test - IgG anti-CMV - IgG anti-HSV2

ABSTRAK

Budi Mulyono - Hasil Pemeriksaan Seroimunologi TORCH pada wanita infertil

Infertilitas merupakan permasalahan pada sebagian pasangan suami-isteri usia subur. Banyak faktor yang terlibat sebagai penyebab infertilitas yang harus dicari peranannya, salah satunya adalah infeksi TORCH. Dalam penelitian ini dibandingkan kepositifan seroimunologi TORCH pada kasus infertil dengan ibu hamil dari populasi di Yogyakarta. Dari 67 kasus infertil dan 21 ibu hamil didapatkan rerata titer IgG anti-CMV dan IgG anti-HSV2 kelompok infertil lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok hamil. Individu yang telah terpapar HSV2 mempunyai risiko infertil yang lebih tinggi dibanding yang belum terpapar. Secara proporsional tidak ada perbedaan seropositif TORCH dan pola infeksi bersama antara kedua kelompok serupa. Dapat ditarik kesimpulan bahwa infeksi TORCH merupakan infeksi yang umum dalam populasi kita dan setiap permasalahan yang ditimbulkannya pada kasus infertil harus dipadankan dengan faktor lain yang terkait.

(B.I.Ked. Vol.30, No. 1:21-27 Maret 1998)

PENGANTAR

Infeksi TORCH merupakan akronim dari kelompok infeksi toksoplasma, rubela, sitomegalovirus (CMV) dan herpes simplex virus (HSV). Walaupun berbeda dalam taksonomi tetapi kelompok mikroba ini memberi gejala

klinis yang mirip¹, gejala yang ada pada penderita sering sukar dibedakan dari penyakit lain, bahkan adakalanya gejala tidak muncul. Infeksi TORCH dapat menyebabkan abortus dan janin cacat kongenital pada ibu hamil serta membawa permasalahan infertilitas pada pasangan suami-istri yang menginginkan keturunan.

Menurut Sumapraja infertilitas merupakan masalah yang dialami oleh 11% pasangan usia subur (cit. Jacoeb).² Kesuburan atau fertilitas se-

Budi Mulyono, Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia

orang wanita dipengaruhi oleh banyak faktor, dan setiap penyebab infertilitas harus dicari dan ditemukan karena faktor-faktor yang sudah nyata akan memberi arahan penanganan dan pengobatan yang jelas. Di Amerika Serikat kunjungan tahunan kasus infertil meningkat dari tahun 1968 sebesar sekitar 600.000 menjadi 2.000.000 pada tahun 90-an.³ Protokol penanganan infertilitas termasuk di antaranya penelaahan infeksi TORCH, yang sebenarnya juga masih merupakan isu kontroversial karena peran dan keberadaannya dalam kasus infertil dan yang subur pun masih beragam demikian juga pada binatang percobaan.^{4, 5, 6, 7, 8}

Di Indonesia penelitian tentang infeksi toksoplasma, rubela, CMV dan HSV-2 pada kasus infertil telah dilaporkan oleh Jacoeb pada tahun 1990² sedangkan pada kasus kehamilan dilaporkan oleh Haksari *et al.*⁹ Dalam penelitian ini dibandingkan kepositifan hasil pemeriksaan seroimunologi TORCH pada kasus infertil dengan ibu yang telah nyata hamil dari populasi yang berasal dari Yogyakarta

BAHAN DAN CARA

Penelitian dilakukan pada sampel serum darah yang diambil dari 67 orang wanita dengan permasalahan infertilitas primer dan 21 ibu hamil sesudah trimester II yang datang memeriksakan di Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Sardjito dari bulan Januari sampai Desember tahun 1997. Sampel yang diambil hanya dari mereka yang berdomisili di kota Yogyakarta dan berumur antara 20-35 tahun. Antara dua kelompok sampel tersebut tidak dilakukan *matching*.

Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan adalah IgG anti-toksoplasma, IgG anti-rubela, IgG anti-CMV dan IgG anti-HSV-2. Khusus untuk anti-rubela juga diperiksa antibodi IgM, hal ini disebabkan antibodi IgG yang dideteksi adalah antibodi protektif^{1,10} sehingga untuk parameter infeksi aktif atau tidak diperlukan deteksi antibodi IgM. Dengan pemeriksaan antibodi IgG ini minimal dapat diketahui apakah individu pernah terpapar mikroba kelompok TORCH atau belum. Terhadap sebagian sampel (26 kasus infertil dan 21 kasus hamil) dilakukan pemeriksaan IgG anti HSV-1. Metode pemeriksaan yang dipakai adalah *microparticle enzyme immunoassay*

(MEIA) dengan substrat fluoresen dari Abbott Diagnostics untuk anti-toksoplasma dan anti-rubela. Untuk anti-CMV, anti-HSV-1 dan anti-HSV-2 dipergunakan metode *micro ELISA* dari Sigma Diagnostics. Hasil pemeriksaan IgG anti-toksoplasma dan IgG anti-rubela dinyatakan dengan satuan IU/ml (*International Unit*), IgG anti-CMV dengan satuan AU/ml (*Arbitrary Unit*)¹ dan untuk anti-HSV-1 dan HSV-2 dalam bentuk indeks titer.

Untuk penelaahan hasil dilakukan justifikasi sebagai berikut: pemeriksaan serologis dinyatakan positif (seropositif) bila IgG anti-toksoplasma ≥ 45 IU/ml; IgG anti Rubela ≥ 15 IU/ml; IgG anti CMV ≥ 23 AU/ml; IgG anti HSV-1 $\geq 0,25$ (indeks) dan anti HSV-2 $\geq 0,22$ (indeks). Nilai di bawah justifikasi tersebut masih memungkinkan adanya hasil positif palsu^{1,10,11}.

Kemaknaan perbedaan tinggi titer antibodi antara kelompok infertil dengan kelompok hamil dianalisis dengan uji-t dalam program SPSS, sedangkan dengan Tabel 2x2 untuk kepositifan antibodi dihitung perbedaan proporsi dengan chi-kuadrat dan analisis *Odds ratio* dengan program EpiInfo-6.

HASIL

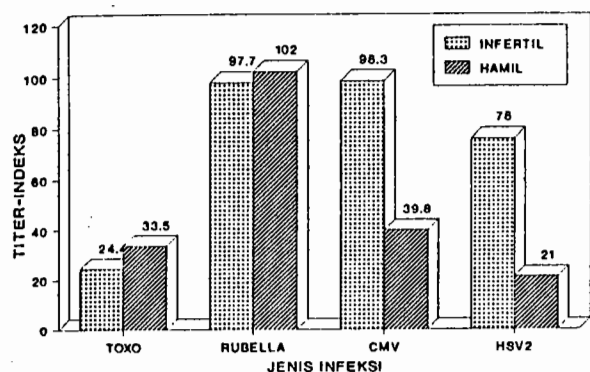
Dari penetapan antibodi TORCH kelas IgG didapatkan hasil seperti yang tercantum dalam TABEL 1.

TABEL 1. - Hasil penetapan antibodi TORCH kelas IgG

Parameter	Infertil (n=67)			Hamil (n=21)		
	Rerata	SD	Kisar-an	Rerata	SD	Kisar-an
Anti-toksoplasma (IU/ml)	24,2	28,6	0-120	33,5	22,8	0-62,6
Anti-rubela (IU/ml)	97,7	128,0	0-501	102,0	107,9	0-342,9
Anti-CMV (AU/ml)	98,3	88,4	0,251	39,8	29,1	0,104
Anti-HSV-2 (indeks)	0,761	1,160	0-6,40	0,21	0,164	0-0,49

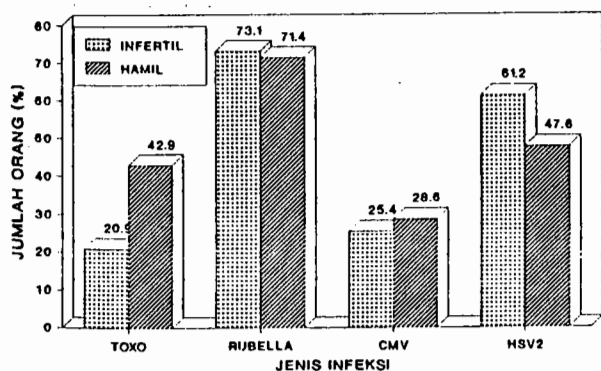
Khusus rubela hasil seropositif IgG menunjukkan adanya kekebalan dan dari penetapan IgM anti-rubela dari semua sampel tidak didapatkan hasil positif. Secara keseluruhan bila dibandingkan maka dapat dilihat dalam GAMBAR 1 (histogram distribusi sampel menurut rerata titer) maka

yang terlihat mencolok berbeda antara kelompok infertil dan hamil adalah rerata titer IgG anti-CMV dan IgG anti-HSV-2. Hasil analisis uji-t menunjukkan bahwa tingginya rerata titer IgG anti-CMV berbeda sangat bermakna ($p < 0,01$), demikian juga tingginya rerata indeks IgG anti-HSV-2 ($p < 0,01$). Sedangkan untuk IgG anti-toksoplasma dan IgG anti-rubela tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p > 0,05$). Dari sampel yang diperiksa IgG anti-HSV-1 tidak didapatkan perbedaan dari indeks titer pada kedua kelompok tersebut.



GAMBAR 1. - Distribusi sampel penelitian menurut rerata titer-indeks serologis

Dengan justifikasi titer maka didapatkan distribusi sampel menurut kepositifan serologis seperti yang tertera dalam GAMBAR 2. Secara urut seropositif IgG anti-toksoplasma, IgG anti-rubela, IgG anti-CMV dan IgG anti-HSV2 untuk kelompok infertil (20,9%; 73,1%; 25,4%; 61,2%) serta untuk kelompok hamil (42,9%; 71,4%; 28,6%; 47,6%).



GAMBAR 2. - Distribusi sampel penelitian menurut kepositifan serologis

Dari perhitungan Tabel 2x2 antara kelompok infertil dan kelompok hamil diperoleh hasil analisis sebagai berikut (TABEL 2 dan TABEL 3).

TABEL 2. - Hasil analisis tabel 2x2 untuk proporsi antibodi IgG (Chi-kuadrat) antara kelompok infertil (n=67) dan hamil (n=21)

Parameter	Chi-kuadrat	
	χ^2	<i>p</i>
Anti Toksoplasma	3,99	0,04
Anti Rubela	0,02	0,88
Anti CMV	0,08	0,77
Anti HSV-2	1,2	0,27

TABEL 3. - Hasil analisis tabel 2x2 untuk perhitungan Odds-ratio antara kelompok infertil (n=67) dan hamil (n=21)

Parameter	Odds-ratio	Interval kepercayaan 95%
Anti Toksoplasma	0,35	0,11 - 1,13
Anti Rubela	1,09	0,32 - 3,63
Anti CMV	1,18	0,34 - 3,95
Anti HSV-2	1,73	0,58 - 5,21

Kecuali proporsi seropositif IgG anti-toksoplasma, proporsi seropositif IgG antirubela, IgG anti-CMV dan IgG anti-HSV-2 antara kelompok infertil dan kelompok hamil tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Dari perhitungan *Odds ratio* tampak bahwa risiko untuk mempunyai permasalahan infertilitas jauh lebih besar pada individu yang telah terpapar virus HSV-2 (OR=1,73), hal ini juga terlihat pada GAMBAR 2, bahwa proporsi pengidap HSV-2 lebih tinggi pada kelompok infertil (61,2% vs 47,6%). Dari sampel yang diperiksa anti-HSV-1 tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dari proporsi seropositif kelompok infertil dan hamil.

Gejala dari masing-masing komponen mikroba dalam TORCH sangat mirip sehingga juga dimungkinkan seorang individu sebenarnya telah terpapar atau mengidap infeksi lebih dari 1 mikroba TORCH (*coincidence infection*), dalam penelitian pola seropositif bersama TORCH dari kelompok infertil dan kelompok hamil seperti dalam TABEL 4.

TABEL 4. - Pola seropositif bersama TORCH

Kepositifan serologis	Kelompok infertil (n=67) (%)	Kelompok hamil (n=21) (%)
Tidak ada seropositif	3,0	0,0
Seropositif 1 mikroba	19,4	19,0
Seropositif 2 mikroba	43,3	43,0
Seropositif 3 mikroba	23,9	19,0
Seropositif 4 mikroba	10,4	19,0

Bila dihitung keeratan hubungan pola seropositif bersama dari 2 kelompok tersebut ternyata terdapat keeratan tinggi ($r = 0,943$) sehingga dapat dikatakan pola pemaparan mikroba TORCH hampir sama pada 2 kelompok populasi tersebut atau dengan kata lain infeksi TORCH sebenarnya hal yang jamak dalam masyarakat kita.

PEMBAHASAN

Dari hasil di atas tampaknya terdapat mekanisme dan kaitan dengan faktor lain yang berbeda dari masing-masing komponen infeksi TORCH. Dari pola infeksi dalam TABEL 4 dapat digambarkan bahwa pemaparan agen infeksi pada kelompok-kelompok populasi sebenarnya mirip, sehingga permasalahan yang timbul dalam kelompok tersebut mungkin disebabkan interrelasi fluktuasi titer dan keberadaan faktor lain.

Seropositif dari toksoplasma dalam penelitian lebih tinggi pada kelompok hamil baik dari segi rerata titer maupun proporsinya. Toksoplasma dalam kasus infertilitas berkaitan dengan masalah endokrin reproduksi dan infeksi perikonsepsi. Kaitan dengan endokrin reproduksi yaitu dengan menurunnya tanggapan hipofise dan LHRH analog (*Luteinizing Hormone Releasing Hormone*), dalam tikus ada kegagalan pelepasan bolus LH dari hipofise.¹² Tikus yang telah terinfeksi lama menunjukkan kelainan follikulogenesis dan atrofi uterus yang nyata.¹³ Bila diadakan autopsi serebral terdapat vaskulitis yang menyebar, gangguan fokal sel endodermal yang membatasi ventrikel lateralis dan ventrikel III serta terjadi edema periventrikular. Infeksi toksoplasma banyak terjadi pada manusia tetapi hanya pada sedikit individu yang berkembang menjadi penyakit klinis.¹⁴ Infeksi akut toksoplasma yang diderita pada kehamilan trimester I atau pada periode peri konsepsi dapat menyebabkan abortus dengan kematian janin.⁵

Permasalahan yang timbul dalam infeksi toksoplasma adalah cara deteksi laboratorium. Pemeriksaan imunoserologis yang dianggap paling mungkin untuk diterapkan di laboratorium rumah sakit mempunyai kendala dalam menentukan jenis imunoglobulin yang tepat, pasangan IgG dan IgM dikatakan sudah memadai untuk menyaring infeksi ataupun keadaan reinfeksi, tetapi peneliti lain melaporkan IgA merupakan cara deteksi yang paling baik untuk infeksi yang didapat yang sedang berlangsung atau infeksi pada janin dan bayi baru lahir.¹⁵ Dalam penelitian ini hanya diperiksa IgG anti-toksoplasma untuk melihat pemaparan agen infeksi dan dilihat dari tingginya titer dapat ditentukan apakah riwayat infeksi dapat dipastikan atau diabaikan.^{1,10} Bila hanya dilihat kepositifan secara teknik laboratorium maka frekuensi IgG anti-toksoplasma mencapai 70,1% (47 dari 67 kasus) dalam kelompok infertil dan 71,4% (15 dari 21 kasus) dalam kelompok hamil, angka ini tidak jauh berbeda dengan peneliti lain di Indonesia.^{9,16} Bila dengan justifikasi IgG ≥ 45 IU/mL maka kelompok hamil lebih tinggi secara proporsional daripada kelompok infertil walaupun perbedaan titer tidak bermakna, frekuensi kepositifan IgG anti-toksoplasma sesuai dengan yang dilaporkan Roos *et al* (1993) sebesar 41,56%.¹⁷ Dalam kaitan ini tampaknya kepositifan antibodi toksoplasma dalam kasus infertil harus dipertimbangkan dengan kondisi lain seperti fluktuasi hormon reproduksi dan riwayat adanya kegagalan konsepsi.

Keberadaan infeksi CMV dalam infertilitas berkaitan dengan berbagai aspek baik pihak suami ataupun pihak isteri. Dampak infeksi CMV pada infertilitas pria tampak dalam penurunan konsentrasi dan motilitas sperma, kelainan ini berhubungan dengan perubahan imunitas selular.¹⁸ Dampak pada infertilitas wanita lebih berkaitan pada masalah konsepsi dan viabilitas janin, lebih jauh lagi merupakan problem perinatologi. Hampir semua infeksi CMV asimtomatik, subklinik serta tertularkan tanpa diketahui atau sepengetahuan si pembawa, pada orang sehat sering tidak bermasalah lain halnya pada individu immunodefisiensi dan bayi.¹⁰ Imunitas ibu tidak menjamin tidak adanya reaktivasi dan mencegah transmisi ke janin. Mengapa beberapa janin terinfeksi berat sedang yang lain tidak, masih belum sepenuhnya diketahui. Dikatakan faktor-faktor

seperti tipe infeksi selama kehamilan (primer atau kekambuhan), umur janin, genetik dan strain virus memegang peran.^{19,20} Pada infeksi dini antibodi IgM ditujukan pada antigen awal dan intermediate selama infeksi masih aktif, jarang atau tidak muncul pada reaktivasi dari infeksi laten, kemudian antibodi IgG muncul dengan puncak 2-3 bulan, antibodi terhadap antigen lanjut akan terus ada sampai bertahun-tahun atau sepanjang umur.^{10, 11} Prevalensi CMV dalam populasi erat hubungannya dengan status sosio-ekonomik, pada status tinggi sekitar 40% dan pada status rendah dapat mencapai 100%.¹¹ Frekuensi kepositifan antibodi CMV dilaporkan tinggi pada kasus infertilitas: 99,6% pada laki-laki dan 98,9% pada wanita.⁸ Bila hanya dilihat kepositifan secara teknik laboratorium dalam penelitian ini didapat IgG anti-CMV positif pada 94% kelompok infertil (63 dari 67 kasus) dan pada 90,5% kelompok hamil, tidak jauh berbeda dengan penelitian Asikin *et al* (sebesar 90%)²¹ dan Haksari *et al* (sebesar 96,77%)⁹. Dengan justifikasi Baltz proporsi kepositifan antara kelompok infertil tidak berbeda dengan kelompok hamil ($p>0,05$), tetapi bila dilihat rerata titer kelompok infertil lebih tinggi secara bermakna ($p<0,01$). Nampaknya pada penanganan infeksi CMV dalam infertilitas perlu diperhatikan fluktuasi kenaikan titer dan keterkaitan kesuburan suami-isteri (cit. Young, *et al*).^{8,22}; kepastian hasil dapat dikuatkan dengan pemeriksaan langsung terhadap keberadaan antigen CMV baik dengan teknik molekular ataupun teknik kultur.^{10,21}

Infeksi HSV-2 jarang menimbulkan permasalahan perikonsepsi, problem yang timbul adalah penularan pada bayi melalui jalan persalinan^{22,23}, HSV teridentifikasi dalam materi endoserviks. Sedang dalam infertilitas ada permasalahan spermatogenesis. Beberapa peneliti menghubungkan infertilitas pria dengan adanya ekspresi gena *HSV-thymidine kinase*^{7,24,25}. Pemeriksaan histopatologis pada tikus menunjukkan adanya kelainan morfologi inti dalam spermatid dan retensi spermatid matang dalam epitel seminiferus sehingga berakibat adanya penurunan konsentrasi, defek morfologi dan penurunan motilitas spermatozoa. Infeksi HSV terdapat pada 40% sampel semen laki-laki infertil, kebanyakan terdeteksi dalam bentuk laten dengan prevalensi yang lebih tinggi pada HSV-2 daripada HSV-1 (71% vs

29%).^{26, 27} Insidensi HSV-2 di berbagai tempat mempunyai kecenderungan meningkat, bersama chlamydia dan HPV (*human papilloma virus*) dikategorikan sebagai *sexually transmitted disease*^{28,29,30,31}. Peningkatan juga disertai tingginya *geometric mean titre*, sedangkan untuk HSV-1 relatif stabil. Dalam penelitian ini baik titer maupun seropositif HSV-2 dalam kelompok infertil lebih tinggi daripada kelompok hamil dengan *Odds ratio* sebesar 1,73 yang berarti individu yang terpapar HSV-2 mempunyai risiko infertil sebesar 1,73 kali dibanding dengan yang belum terpapar. Penelitian di Israel menunjukkan wanita dengan keluhan ginekologik mempunyai prevalensi seropositif HSV-2 lebih tinggi dibandingkan orang sehat.³² Penelitian di Stockholm, Swedia melaporkan adanya peningkatan prevalensi infeksi HSV-2 pada wanita hamil yang disertai juga peningkatan risiko pada laki-laki pasangannya³³; hal ini menunjukkan bahwa kontak seksual merupakan cara penularan HSV-2 yang efektif. Oleh karena itu dalam kasus infertil bila ditemui seropositif HSV-2, maka perlu dilakukan pengamatan spermatologik suami yang lebih seksama dan pemastian diagnosis apakah infeksi masih aktif. Problem dalam diagnosis infeksi HSV adalah sejauh ini sensitivitas pemeriksaan seroimunologi belum memadai walaupun spesifisitas mencapai 91%³⁴. Diharapkan dapat diperoleh nilai lebih tinggi dengan teknik PCR yang mempunyai *recovery* 8 kali daripada teknik pembiakan.³⁵

Seropositif untuk rubela mempunyai makna yang berbeda bila dibandingkan dengan komponen lain dalam TORCH oleh karena protein yang dipakai berasal dari antigen protektif^{1, 10} sehingga seropositif IgG anti-rubela dapat mempunyai makna kekebalan. Dalam beberapa pusat in vitro *fertilization* imunitas rubela merupakan prasyarat yang mempunyai aspek medikolegal bahkan *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) menganjurkan adanya imunisasi pada wanita yang rentan. Permasalahan rubela adalah kasus infertil berkaitan dengan periode perikonsepsi karena infeksi rubela pada masa organogenesis (awal kehamilan) dapat menimbulkan kerusakan fatal yang berakibat tidak bisa berlanjutnya hasil konsepsi.^{3, 10, 20} Dalam penelitian ini seropositif IgG anti-rubela antara kelompok infertil dan kelompok hamil tidak

berbeda baik dalam segi tingginya titer maupun proporsi seropositif. Hasil pada kelompok hamil tidak jauh berbeda dengan laporan peneliti lain^{9,36}, hanya di sini tidak ada hasil positif IgM anti-rubela. Apakah ini karena area sampel yang terbatas atau jumlah sampel yang kurang banyak perlu kajian lebih lanjut.

SIMPULAN

Infeksi TORCH merupakan infeksi yang umum dalam populasi kita dan tidak berdiri sendiri sebagai penyebab infertilitas melainkan sebagai salah satu dari beberapa faktor penyebab yang dapat terjadi bersama. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa secara proporsional tidak ada perbedaan seropositif TORCH dan pola infeksi bersama antara kelompok infertil dengan kelompok hamil. Ditinjau dari rerata titer maka IgG anti-CMV dan IgG anti-HSV2 dari kelompok infertil lebih tinggi secara bermakna dibanding dengan kelompok hamil. Dari perhitungan *Odds ratio* maka individu yang terpapar HSV2 mempunyai risiko infertil yang lebih besar dibanding yang belum terpapar. Ada 3 aspek yang perlu ditelaah dalam seropositif TORCH infertilitas, yaitu: 1). Aspek masa perikonsepsi, infeksi toksoplasma, CMV, dan rubela dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan organ janin sehingga embrio tidak dapat melangsungkan viabilitasnya. Oleh karena itu seropositif toksoplasma, CMV dan rubela harus dikaitkan dengan adanya riwayat aborsi, kematian janin ataupun anak lahir cacat organ dalam kasus infertilitas; 2). Aspek spermatologi, infeksi CMV dan HSV-2 bersama infeksi lain seperti chlamydia dan HPV (*human papilloma virus*) dapat menyebabkan defek pada spermatozoa. Oleh karena itu seropositif CMV dan HSV-2 pada wanita infertil seyogyanya dihubungkan dengan ada tidaknya defek dari analisis sperma; 3). Aspek endokrin reproduksi, infeksi toksoplasma yang dilaporkan dapat berakibat pada hipofise oleh karena itu seropositif toksoplasma dapat dihubungkan dengan gangguan regulasi FSH dan LH pada wanita infertil.

KEPUSTAKAAN

- Baltz M. TORCH Testing Handbook. St. Louis: Sigma Diagnostics, 1992.
- Jacob TZ. Faktor Imunoendokrinologis dan seluler lingkungan mikro zalir peritoneal yang berperan pada infertilitas idiopatik wanita. [Disertasi] Universitas Indonesia, Jakarta, 1990.
- Seibel MM. Infertility: A comprehensive Text, 2nd Ed. Stamford: Appleton & Lange, 1997.
- Bayer SR, Turksoy RN, Emmi AM, & Reindollar RH. Rubela susceptibility of an infertile population. *Fertil Steril*. 1991; 56(1): 145-6.
- Daffos F, Forestier F, Pavlovsky MC, Thulliez P, Asfrant C, Valanti D, et al. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. *N Engl J Med*. 1988; 318: 271-5.
- Ron ECR, Bracha Y, Herman A, Golan A, Soffer Y, Bukovsky I, et al. Prerequisite work-up of the couple before in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1992; 7(4): 403-6.
- Wilkie TM, Brown RE, Ehrman WJ, Palmiter R,D, & Hammer RE. Germ-line intra chromosomal recombination restores fertility in transgenic mice Myk-103 male mice. *Genes Dev*. 1991; 5(1): 38-48.
- Young YS, Ho HN, Chen HN, Chen SU, Shen CY, Cheng SF, et al. Cytomegalovirus infection and viral shedding in the genital tract of infertile couples. *J Med Virol*. 1995; 45(2): 179-82.
- Haksari EL, Setyowireni D, Suryono A, Sofowean S, & Wardoyo H. The Prevalence of TORCH infection in pregnant woman in Yogyakarta. Proceeding the VIth. National Congress of the Indonesian Society for Perinatology, Manado, September:13-17, 1997.
- Stevens CD. Clinical immunology and serology: A laboratory perspective. Philadelphia: F.A. Davis Co., 1994.
- Stites DP, Terr AI, Parslow T,G. Basic & Clinical Immunology, 8th Ed. East Norwalk: Prentice-Hall Int. Inc. - Lange Med. Book, 1994.
- Stahl W, Dias JA, Turek G. Hypothalamic-adenohypophyseal origin of reproductive failure in mice following chronic infection with toksoplasma gondii. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1985; 178(2): 246-9.
- Stahl W, Kaneda Y, Nuguchi T. Reproductive failure in mice chronically infected with Toksoplasma gondii. *Parasitol Res*. 1994; 80(1): 22-8.
- Holliman RE. Toxoplasmosis and the acquired immune deficiency syndrome. *J Infect*. 1988; 16: 121-8.
- Stepick-Biek P, Thulliez P, Ararjo F.G, Remington JS. IgA antibodies for diagnosis of acute congenital and acquired toxoplasmosis. *J Infect Dis*. 1990; 162: 270-3.
- Umayah, Ummiyati SR, Sofowean S. The impact of toxoplasmosis in pregnant women to the fetal outcome. Proceeding seminar on tropical diseases in Asia, Surabaya, February 24, 1997.
- Roos T, Martius J, Gross U, Schrod L. Systematic Serologic Screening for Toxoplasmosis in Pregnancy. *Obstet. Gynecol*. 1993; 81: 243-50.
- Torino G, Bizzarro A, Castello G, Daponte A, Fontana A, De-Bellis A, et al. Cytomegalovirus and male infertility. *Ann Biol Clin Pans*. 1987; 45(4): 440-3.

19. Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, Britt WJ, & Alford CA. Congenital and perinatal CMV infection, In: Plotkin SA, Michelton S, Pagano JS, & Rapp F. Editors. CMV: Pathogenesis & prevention of human infection, New York: Alan R Liss Inc, 1984.
20. Warin JF, Ironside AG, Mandel BK. Lecture notes on infectious diseases, 3rd Ed. Singapore: Blackwell Scientific Publications, 1980.
21. Asikin N, Zakiyah E, Marnilda. Pemeriksaan laboratorium Infeksi CMV, J Kimia Klin Indon, 1997; 8 (1): 8-12.
22. Eggert-Kruse W, Pohl S, Naher H, Tilgen W, & Runnenbaum B. Microbial colonization and sperm-mucus interaction: results in 1000 infertile couples. Hum Reprod. 1992; 7(5): 612-20.
23. Anderson-Ellstrom A, Svennerholm B, & Forssman L. Prevalence of antibodies to herpes simplex virus type 1 and 2, Epstein Barr virus and cytomegalovirus in teenage girls. Scand J Infect Dis. 1995; 27(4): 315-8.
24. Al-Shawi R, Burke J, Wallace H, Harrison S, Buxton D, Maley S. et al. The HSV-1 thymidine kinase is expressed in the testes of transgenic mice under the control of cryptic promoter. Mol Cell Biol. 1991; 11(8): 4207-16.
25. Braun RE, Lo D, Pinkot CA, Widera G, Flavel RA, Palmiter RD. et al. Infertility in male transgenic mice: Disruption of sperm development by HSV-tk expression in post meiotic germ cells. Biol Reprod. 1990; 43(4): 684-93.
26. Kulcsar G, Csata S, & Nasz I. 1991 Investigations into virus carriership in human semen and mouse testicular cells. Acta Microbiol Hung. 38(2): 127-32.
27. Woolley PD, & Kudesia G. Incidence of herpes simplex virus type-1 and type-2 from patients with primary (first attack) genital herpes in Sheffield. Int J STD Aids. 1990; 1(3): 184-6.
28. Sargent SJ. The "other" sexually transmitted diseases. Chlamydia, herpes simplex virus and human papillomavirus infections. Postgrad Med. 1992; 91(4): 359-62.
29. Kangro HO, Osman HK, Lau YL, Heath RB, Yeung CY, Ng MH. Seroprevalence of antibodies to human herpes viruses in England and Hong Kong. J Med Virol. 1994; 43(1): 91-6.
30. Schultz R, Suarez M, & Saavedra T. Follow-up of pregnant women at high risk of transmitting herpes simplex virus. Bull Pan Am Health Organ. 1994; 28(2): 163-8.
31. Smetana Z, Dulitsky M, Movshovitz M, Isacsohn M, Seidman D, Leventon KS. Selected epidemiological features of herpes genitalis in Israel based on laboratory data. Isr J Med Sci. 1994; 30(5-6): 375-9.
32. Isacsohn M, Baron E, Yaeger Y, Smetana Z, Weiner D, Slater PE. A seroprevalence study of herpes virus type-2 infection in Israeli women: Implications for routine screening. Isr J Med Sci. 1994; 30(5-6): 379-83.
33. Forsgren M, Skoog E, Jeansson S, Olofsson S, & Giesecke J. Prevalence of antibodies to herpes simplex virus in pregnant women in Stockholm in 1969, 1983 and 1989: Implication for STD epidemiology. Int J STD Aids. 1994; 5(2): 113-6.
34. Cowan FM, Johnson AM, Ashley R, Corey L, & Mindel A. Relationship between antibodies to herpes simplex virus (HSV) and symptoms of HSV infection. J Infect Dis. 1996; 174(3): 470-5.
35. Cone RW, Hobson AC, Brown Z, Ashley R, Barry S, Winter C. et al. Frequent detection of genital herpes simplex virus DNA by polymerase chain reaction among pregnant women. JAMA. 1994; 272 (10): 792-6.
36. Praseno, Nirwati H, Nuryastuti T. Immune status of pregnant women against rubella infection in a defined rural area of Yogyakarta, Berita Kedokteran Masyarakat 1997; XIII (3): 115-8.