

Toksoplasmosis

Oleh : Dr. Herawati Sudiono

Abstract

Toxoplasmosis is an infectious disease caused by toxoplasma gondii. Mostly women are infected and may cause immunity incompetence which could result infertility, abortion, foetal death, growth retardation, premature labour and congenital anomaly.

Diagnosis is set up by clinical symptoms, serological examination and detectable parasite in specimen

Pyrimetahamine with sulfadiazin is the drug of choice to cure toxoplasmosis, with special precaution to pregnant women, because of its teratogenic effect tested and proven on animals.

Pendahuluan

Toksoplasmosis adalah salah satu penyakit infeksi yang sering ditemukan di daerah tropis dan disebabkan oleh *Toxoplasma gondii*. Penyakit ini ditularkan dari kucing atau anjing sehingga individu pemelihara hewan ini diduga memiliki kemungkinan toksoplasmosis lebih banyak dibandingkan dengan yang tidak memelihara hewan tersebut. Tetapi beberapa peneliti membuktikan bahwa tidak ada perbedaan terhadap kemungkinan menderita toksoplasmosis pada individu yang memelihara hewan tersebut dengan yang tidak memeliharanya.

Penyakit ini jarang menimbulkan gejala klinis namun akibatnya dapat sangat merugikan bahkan dapat membahayakan jiwa. Manifestasi klinis penyakit ini sangat bervariasi dan pada umumnya tidak khas sehingga sulit untuk diduga.

Dalam makalah ini akan dibicarakan mengenai morfologi dan lingkaran hidup parasit penyebab, patogenesis penyakit, gejala klinis, pemeriksaan laboratorium yang dianjurkan untuk menegakkan diagnosis toksoplasmosis serta pengobatannya.

Sejarah

Pada tahun 1908, *Toxoplasma gondii* untuk pertama kali ditemukan oleh Nicole dan Spendore pada binatang mengerat *Ctenodactylus gondii* yaitu dalam suatu laboratorium di Tunisia. Pada tahun 1937, parasit ini ditemukan pada neonatus dengan ensefalitis, tetapi transmisi intra-uterin secara transplasental baru diketahui pada tahun 1970. Pada tahun 1948, Sabin dan Feldman menemukan tes serologis untuk mendeteksi adanya zat anti *Toxoplasma gondii* dan setelah melewati 60 tahun penyelidikan, barulah pada tahun 1969 diketahui bahwa spesies *Toxoplasma gondii* termasuk ordo Coccidia. Kucing merupakan hospes definitif sedangkan hospes perantaranya adalah manusia, anjing, sapi, kambing, tikus dan burung.

Morfologi dan Lingkaran Hidup *Toxoplasma gondii*

Dalam sel epitel usus halus kucing, berlangsung siklus aseksual (*schizogoni*) dan siklus seksual (gametogoni/sporogoni) yang akan menghasilkan ookista dan dikeluarkan bersama tinja. Kucing yang mengandung *T.gondii* dalam sekali defekasi akan mengeluarkan berjuta-juta ookista. Ookista ini berbentuk oval dengan ukuran 12,5 u. Dari satu ookista akan dihasilkan 2 sporokista yang masing-masing mengandung 4 sporozit.

Bila ookista ini tertelan oleh hospes perantara, akan terbentuk kelompok trofozoit yang dapat membelah secara aktif. Pada hospes perantara tidak dibentuk stadium seksual tetapi dibentuk stadium istirahat yaitu kista. Bila kucing makan tikus yang mengandung kista, maka akan terbentuk lagi stadium seksual di dalam usus halusnya.

Patogenesis Toksoplasmosis

Infeksi pada manusia dapat terjadi bila manusia makan daging mentah atau daging kurang matang yang mengandung kista atau makan makanan yang tercemar dengan ookista. Transmisi toksoplasma ke janin *in utero* terjadi melalui plasenta bila ibu hamil terinfeksi parasit ini. Infeksi dapat pula terjadi di laboratorium pada orang yang bekerja dengan binatang percobaan yang terinfeksi dengan *T.gondii* atau melalui jarum suntik ataupun alat laboratorium lainnya.

Toksoplasma yang tertelan bersama makanan akan menembus epitel usus dan difagosit oleh makrofag atau masuk ke dalam limfosit. Parasit selanjutnya akan

berkembang biak di dalam sel, menyebabkan sel hospes pecah dan menyerang sel lain di sekitarnya.

Toksoplasma dapat tetap dalam makrofag sehingga dapat menyebar secara limfogen maupun hematogen ke seluruh tubuh. Parasit ini dapat menyerang semua organ dan jaringan tubuh hospes, kecuali sel darah merah yang tidak berinti.

Kerusakan jaringan oleh parasit dapat dihentikan oleh kekebalan humoral maupun selular hospes. Pada alat tubuh tertentu seperti susunan saraf pusat dan mata, kerusakan dapat berlanjut terus karena pada organ-organ tersebut zat anti tidak dapat masuk karena adanya sawar (*barrier*)

Kista dibentuk setelah ada kekebalan yaitu hari ke-8 setelah infeksi, dan kista ini dapat ditemukan pada berbagai jaringan tubuh mungkin untuk seumur hidup, misalnya pada otot jantung dan otot lurik. Kista dapat pecah dan takhizoit yang bebas akan membentuk kista lagi di sekitarnya atau berkembang biak dengan cepat dan menghancurkan jaringan yang ditempatinya. Dengan demikian kerusakan yang terjadi akan semakin luas, terutama pada daerah yang tidak mengandung zat anti, seperti otak dan retina.

Bila ibu terinfeksi pada saat hamil, sekitar 40 % bayi akan terinfeksi. Makin tua usia kehamilan saat terjadinya infeksi, makin besar kemungkinan janin terinfeksi. Infeksi pada kehamilan trimester pertama akan menyebabkan infeksi pada 17 % di antara janin; pada trimester kedua sebanyak 24 %; dan pada trimester ketiga berjumlah 62 %. Diketahui pula bahwa parasitemia dapat menetap selama 14 bulan dan keadaan ini memperbesar kemungkinan terjadinya infeksi kongenital berulang. Beberapa peneliti menganggap bahwa hal tersebut sulit dibuktikan dan kemungkinan berulangnya toksoplasmosis kongenital pada kehamilan berikut sangat kecil.

Gejala Klinis Toksoplasmosis

Penyakit ini secara klasik dibagi atas 2 bentuk, yaitu bentuk kongenital dan bentuk didapat (akuisita).

Pada infeksi prenatal, berat-ringannya lesi tergantung virulensi strain toksoplasma, jumlah parasit yang ditularkan oleh ibu ke janin, umur kehamilan waktu terjadi infeksi dan maturitas sistem imun bayi. Infeksi akan berjalan terus karena kekebalan janin masih belum sempurna dan perkembangan kekebalan aktif pada janin lambat.

TOKSOPLASMOSIS

Di susunan saraf pusat janin, infeksi berlanjut secara progresif dalam bentuk nodul glial, mikro-infarak dan nekrosis periventrikuler. Hidrosefalus dapat terjadi bila ada obstruksi di Aqueductus Sylvii dan akumulasi cairan di ventrikel lateral dan ventrikel III. Proliferasi takhizoit subependimal dan di ependimus akan menyebabkan penyebaran parasit ke dalam sistem ventrikel. Keadaan ini akan mengakibatkan obstruksi diaqueductus, disusul berkumpulnya antigen toksoplasma di ventrikel lateral dan ventrikel III dan terbentuknya nekrosis periventrikuler.

Antigen di ventrikel dapat merembes melalui kerusakan ependimal lalu menempel pada pembuluh darah yang mengandung anti toksoplasma tipe IgG dari ibu. Lesi ini berhubungan dengan trombosis pada arteri dan arteritis perifer dengan kebocoran plasma dan tidak disertai takhizoit yang berproliferasi. Karena lesi ini hanya ditemukan setempat pada kerusakan ependima, maka lesi ini dianggap sebagai reaksi antigen-antibodi. Kemungkinan terjadinya reaksi toksik dapat disingkirkan karena jaringan granulasi timbul dalam jumlah besar dari dinding arteri yang mengalami trombosis dan masuk ke lumen ventrikel dimana banyak terdapat antigen. Dengan berlanjutnya nekrosis pada infark periventrikuler, ventrikel akan bertambah besar dan kadar protein cairan ventrikel meningkat.

Pada toksoplasmosis kongenital, susunan saraf pusat selalu terlibat sebagai ensefalomielitis. Tetapi lesi ekstradural kadang-kadang berat, malahan dapat lebih menonjol daripada lesi pada susunan saraf pusat. Bayi dengan toksoplasmosis kongenital akan lahir sehat tetapi dapat pula langsung timbul gambaran eritroblastosis fetalis atau hidrops fetalis. Sumbatan Aqueductus Sylvii pada bayi akan menyebabkan hidrosefalus dan trias klasik yang sering dijumpai adalah hidrosefalus, khoriorretinitis dan kalsifikasi intrakranial. Bila trias ini ditambah dengan kelainan psikomotorik, maka kelainan ini disebut Tetrade Sabin.

Bila ibu hamil terinfeksi toksoplasma, dapat terjadi beberapa kemungkinan pada janin, yaitu :

1. Abortus atau lahir mati
2. Bayi tidak terinfeksi
3. Bayi terinfeksi tanpa gejala klinis
4. Bayi terinfeksi tanpa gejala klinis pada mulanya, kemudian timbul gejala klinis di kemudian hari.
5. Bayi terinfeksi dengan gejala subklinis
6. Bayi terinfeksi dengan gejala sistemik
7. Bayi terinfeksi dengan gejala neurologik dengan atau tanpa khoriorretinitis

8. Bayi terinfeksi dengan khoriorretinitis

Infeksi *postnatal* pada orang dewasa biasanya ditandai gejala seperti penyakit infeksi lainnya yaitu demam, malaise, nyeri sendi, pembesaran kelenjar getah bening (toksoplasmosis limfonodosa akuta). Pada penderita dengan defisiensi imunologis seperti karsinoma, leukemia, pengobatan kortikosteroid dosis tinggi, terapi antimetabolit dan radiasi, gejala infeksi lebih hebat. Gejala yang timbul pada keadaan ini adalah demam hebat (toksoplasmosis eksantematikus akuta). Infeksi yang mengenai susunan saraf pusat menyebabkan ensefalitis (toksoplasmosis serebralis akuta). Selain itu parasit dapat masuk ke otot jantung, menyebabkan sel yang mengandung parasit akan pecah dan menimbulkan peradangan (toksoplasmosis miokarditis akuta). Lesi pada mata akan mengenai retina dan khoroid menimbulkan iridosiklitis dan khoroiditis (toksoplasmosis oftalmika akuta).

Diagnosis toksoplasmosis

Toksoplasmosis didapat biasanya berlangsung tanpa gejala atau bila ada gejala biasanya gejala ini mirip dengan penyakit infeksi lainnya sehingga diagnosis sulit ditegakkan. Ibu hamil yang mendapat infeksi primer di waktu hamil dapat melahirkan anak dengan toksoplasmosis kongenital.

Dibandingkan dengan toksoplasmosis yang dialami oleh seorang ibu hamil, toksoplasmosis lebih penting artinya bagi janin yang ditularinya. Diagnosis toksoplasmosis yang medik penting adalah toksoplasmosis kongenital dan toksoplasmosis pada penderita dengan imunodefisiensi. Oleh karena itu diagnosis penting dibuat pada neonatus, pada ibu hamil terutama pada awal kehamilan dan pada penderita imunodefisiensi.

Diagnosis toksoplasmosis dapat ditegakkan berdasarkan gejala klinis, pemeriksaan serologis dan menemukan parasit dalam jaringan tubuh.

Diagnosis dengan isolasi parasit dari jaringan biopsi atau otopsi (pada infeksi akut dan menahun) dan dari cairan tubuh (pada infeksi menahun) dapat dilakukan dengan menggunakan menciit. Tetapi cara ini memerlukan waktu yang lama.

Selain itu diagnosis pasti toksoplasmosis juga dapat ditegakkan dengan menemukan parasit pada pemeriksaan histopatologis jaringan otak, sumsum tulang, kelenjar limfe dan cairan otak, tetapi cara ini sulit dilakukan.

Diagnosis serologis dapat dilakukan dengan mendeteksi zat anti-IGM spesifik dan zat anti-IgG spesifik. Setelah bayi lahir, zat anti-IgM spesifik akan dibentuk

TOKSOPLASMOSIS

setelah terjadi infeksi primer dan zat anti ini akan menghilang setelah 1-3 bulan atau lebih lama. Zat anti-IgG spesifik dapat dideteksi beberapa hari setelah munculnya zat anti-IgM. Jumlah zat anti-IgG meningkat dan mencapai puncak setelah beberapa minggu (sekitar 3 minggu) dan kadar zat anti-IgG yang tinggi ini dapat ditemukan selama berbulan-bulan sampai setahun atau lebih. Selanjutnya kadar zat anti-IgG akan menurun tetapi masih dapat ditemukan seumur hidup dalam kadar rendah. Bila terjadi reinfeksi, jumlah zat anti-IgG akan bertambah banyak.

Diagnosis infeksi akut dapat dipastikan pada pemeriksaan ulang, yaitu bila ada serokonversi titer IgG dari negatif menjadi positif, bila jumlah IgG meningkat bermakna atau bila ditemukan zat anti-IgM spesifik.

Pada masa *prenatal*, pembentukan zat anti dimulai pada akhir trimester pertama dan imunoglobulin yang dibentuk terutama termasuk kelas IgM. Pada saat ini, hampir seluruh IgG dalam darah janin didapat secara pasif dari ibu melalui plasenta, sedangkan IgM tidak dapat melalui plasenta karena memiliki ukuran yang besar. Oleh karena itu, bila neonatus memiliki IgM berarti IgM ini dibentuk sendiri oleh bayi dan keadaan ini menunjukkan adanya infeksi akut. Jumlah IgG pada bayi baru lahir sama dengan jumlah IgG ibu dan kadar ini akan berkurang sampai nol setelah 20-30 hari.

Pada infeksi intra-uterin, janin membentuk zat anti-IgM spesifik. Setelah lahir, pembentukan imunoglobulin spesifik beralih dari IgM ke IgG spesifik. Bayi dapat membentuk IgG sendiri pada usia 2-3 bulan sehingga kadar IgG yang berasal dari ibu akan menurun setelah lahir dan kemudian akan naik kembali pada usia 2-3 bulan.

Diagnosis toksoplasmosis kongenital dapat dipastikan bila dapat dideteksi IgM spesifik atau bila IgG spesifik tetap ada setelah IgG yang berasal dari ibu menghilang.

Pemeriksaan Serologis Pada Toksoplasmosis

Tes serologis yang dapat dipakai untuk menunjang diagnosis toksoplasmosis adalah tes warna Sabin dan Feldman (*Dye test*), tes ikat komplemen (CFT), tes hemaglutinasi tidak langsung (IHA), tes zat antilfluoresen tidak langsung (IFA), tes aglutinasi dan *Enzyme linked immunosorbent assay (Elisa)*.

Tes Sabin dan Feldman merupakan pemeriksaan yang pertama kali ditemukan. Dasar tes ini adalah *T. gondii* mudah diwarnai dengan biru metilen tetapi bila

dicampur dengan serum kebal, maka parasit tidak mengambil warna lagi karena antibodi toksoplasma yang ada dalam serum akan melisis parasit ini.

Tes ikat komplemen (CFT) berdasarkan reaksi antigen-toksoplasma yang dilekatkan pada penyangga padat. Mula-mula diinkubasi dengan serum penderita, kemudian dengan antibodi yang berlabel enzim. Kadar antibodi di dalam serum penderita sebanding dengan intensitas warna yang timbul setelah ikatan antigen-antibodi dicampur dengan substrat.

Pengobatan

Pengobatan toksoplasmosis yang paling efektif adalah kombinasi pirimetamin dan sulfadiazin atau trisulfa. Dibandingkan dengan kombinasi obat lainnya, ternyata kombinasi kedua jenis obat ini paling efektif, baik *in vitro* maupun *in vivo*. Pirimetamin yang di Indonesia dikenal sebagai antimalaria bila dikombinasi dengan sulfadiazin ternyata dapat menghambat pembelahan *T. gondii*. Secara tersendiri, pirimetamin dengan konsentrasi 1 µg/ml maupun sulfadiazin dengan konsentrasi 0,5-5,0 µg/ml tidak mempunyai efek apa-apa terhadap parasit. Tetapi bila kedua jenis obat tersebut digabung dengan konsentrasi tersebut di atas ternyata dapat menyebabkan parasit tidak dapat membelah.

Kombinasi lain yang juga efektif adalah spiramisin/sulfadiazin, klindamisin/sulfadiazin. Dari ketiga kombinasi obat tersebut, banyak literatur menyebutkan bahwa kombinasi pirimetamin/sulfadiazin yang dianggap paling efektif. Dosis dan lamanya terapi tergantung dari berat-ringannya penyakit. Dosis awal untuk orang dewasa (oral) 100-200 mg diberikan selama 2 hari. Dosis untuk anak 2 mg/kg BB dan maksimum tidak melebihi dosis awal orang dewasa dan diberikan selama 2-3 hari. Dosis penunjang (*maintanance dose*) diberikan 1 mg/Kg BB dengan dosis maksimum 25 mg. Dosis ini dapat ditingkatkan sampai 50 mg/hari, terutama pada penderita dengan imunodefisiensi. Mengingat waktu paruh pirimetamin cukup panjang yaitu sekitar 4-5 hari, maka dosis penunjang diberikan dengan interval 3-4 hari, kecuali untuk penderita yang berat dan infeksi pada mata, dosis penunjang dapat diberikan setiap hari.

Efek samping pirimetamin adalah depresi sumsum tulang reversibel dan berkaitan dengan dosis yang diberikan. Oleh karena itu pada pemberian obat ini perlu dilakukan pemeriksaan darah 2 kali seminggu untuk memantau kemungkinan terjadinya anemia, leukopenia dan trombositopenia. Selain itu untuk mencegah terjadinya depresi sumsum tulang, dianjurkan pemberian asam folat 5-20 mg per hari.

Pengobatan Toksoplasmosis Pada Wanita Hamil

Menurut George Desmots, toksoplasmosis yang terjadi pada wanita hamil dinyatakan sebagai penyebab keguguran dan toksoplasmosis kongenital. Oleh karena itu toksoplasmosis yang terjadi pada wanita hamil perlu diobati. Pemberian kombinasi pirimetamin/sulfadiazin pada wanita hamil harus hati-hati karena pirimetamin dapat menimbulkan efek teratogenik pada hewan percobaan, walaupun sejumlah penderita toksoplasmosis dengan kehamilan yang telah diobati dengan pirimetamin dan sulfadiazin dan ditambah asam folat ternyata melahirkan bayi tanpa kelainan.

Pengobatan Toksoplasmosis Pada Penderita AIDS

Penderita AIDS mudah terkena penyakit infeksi karena defisiensi imunitas, banyak di antaranya terkena toksoplasmosis ensefalitis yang sering menyebabkan kematian. Pengobatan yang dianggap paling efektif adalah kombinasi pirimetamin dan sulfadiazin atau trisulfapirimidin. Dosis pirimetamin 50-100 mg/hari dan dosis sulfadiazin 2-6 g/hari. Efek samping penggunaan kombinasi ini dapat mencapai 70 %, berupa trombositopenia, leukopenia, kemerahan pada kulit dan peningkatan kadar serum transaminase.

Obat-obat alternatif lain antara lain anticoccidia seperti lasalosid, kombinasi trimetoprim-sulfametoksazol, analog seperti lasalosid, kombinasi trimetoprim sulfametoksazol, analog purin seperti aprinosid, roksitromisin dan piritreksin. Beberapa diantara obat-obat tersebut telah digunakan di klinik dan beberapa yang lain masih dalam uji coba.

Pencegahan

Secara umum pencegahan dapat dilakukan dengan cara-cara sebagai berikut :

1. Jangan makan daging yang mentah
2. Tinja kucing dibakar atau diberi antiseptik
3. Mencegah kontaminasi makanan dengan lalat atau kecoa
4. Mencuci tangan sebelum makan dan setelah memegang daging mentah. Bila berkebun sebaiknya menggunakan sarung tangan.

Kesimpulan

Toksoplasmosis merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Toxoplasma gondii*. Secara klasik, penyakit ini dibagi atas 2 bentuk yaitu toksoplasmosis kongenital dan toksoplasmosis didapat (akuisita). Toksoplasmosis didapat biasanya berlangsung tanpa gejala atau bila ada gejala biasanya mirip dengan gejala penyakit infeksi lain sehingga sulit didiagnosis.

Berbagai penelitian menemukan bahwa wanita yang dalam masa reproduksi terjangkit penyakit ini dapat menghadapi risiko gangguan imunitas yang akan mempengaruhi fertilitasnya, abortus, kematian janin, pertumbuhan janin terhambat, persalinan prematur serta kelainan bawaan.

Bila ibu hamil terinfeksi *Toxoplasma gondii* dapat terjadi beberapa kemungkinan, yaitu abortus atau lahir mati, bayi tidak terinfeksi, bayi terinfeksi tanpa gejala klinis, bayi terinfeksi tanpa gejala klinis pada mulanya, kemudian timbul gejala klinis di kemudian hari, bayi terinfeksi dengan gejala subklinis, bayi terinfeksi dengan gejala sistemik, bayi terinfeksi dengan gejala neurologik dengan atau tanpa khorioretinitis, bayi terinfeksi dengan khorioretinitis. Oleh karena itu diagnosis penting dibuat pada ibu hamil terutama pada awal kehamilan, pada neonatus, dan pada penderita imunodefisiensi.

Dikenal beberapa cara untuk menegakkan diagnosis toksoplasmosis yaitu berdasarkan gejala klinis (sulit dilakukan), pemeriksaan serologis dan menemukan parasit dalam jaringan tubuh.

Pengobatan penyakit ini paling efektif dengan kombinasi pirimetamin dan sulfadiazin. Dosis dan lama pengobatan tergantung dari berat ringannya penyakit. Untuk memantau timbulnya efek samping obat berupa depresi sumsum tulang, perlu dilakukan pemeriksaan darah 2 kali seminggu terhadap kemungkinan terjadinya anemia, leukopenia dan trombositopenia

Kepustakaan

1. Alford CA. Chronic Congenital and Perinatal Infections. In : Avery GB. Neonatology. Pathophysiology and Management of the Newborn. 3rd. Ed. Philadelphia; J J Lippincott Co, 1987 : 874-916
2. Brown, WJ, Voge M. Neuropathology of Parasitic Infection. Oxford, New York, Toronto (Oxford Univ Press), 1982 : 22-42

TOKSOPLASMOSIS

3. Concise Communication. In vivo activity of piritrezin against *Toxoplasma gondii*. *J Infect Dis*. 1987 : 156
4. Desmonts G, Couvreur J. Congenital toxoplasmosis. A prospective study of 378 pregnancies. *N Engl J Med*. 1974 : 290
5. Duker MNG. Meyler's Side Effects of Drugs. 9th Ed. 1980 : 488
6. Frenkel JK. Toxoplasmosis. *Ped Clin North Am* 1985 : 32
7. Grossman PL, Remington JS. The Effect of Trimethoprim and Sulfamethoxazole of *Toxoplasma gondii* in vitro and in vivo. *Am J Trop Med Hyg* 1979 : 28
8. Lee RV. Toxoplasmosis. In : Burrow GN, Ferris TF. *Medical Complications During Pregnancy*. 2nd Ed. Philadelphia : WB Saunders
9. Lepout C, et al. Treatment of central nervous system toxoplasmosis with Pyrimethamine/Sulfadiazine combination in 35 patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med*. 1988 : 84
10. Luft KJB. Potent in vivo of aprinocid , a purine analoge against murine toxoplasmosis. *J Infect Dis*. 1980 : 154
11. Melton ML, Sheffield HG. Activity of the anticoccidial against *Toxoplasma gondii* in cultured cell. *J Parasitol*. 1975 : 61
12. Miller MJ, Aronson WJ, Remington JS. Late parasitemia in asymptomatic acquired toxoplasmosis. *Ann Intern Med*. 1969 :
13. Petersdorf, et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 10th Ed. 1987
14. Remington JS, Desmonts G. Toxoplasmosis. In : Remington, JS, Klein JO. *Infectious Disease of the Fetus and Newborn Infant*. WB Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto. 1982
15. Rolston KVI, Iloy J. Role of clindamycin in treatment of central nervous system toxoplasmosis. *Am J Med*. 1987 : 33
16. Schwarz RH. Perinatal Infections (TORCH Syndrome). In : Sciarra JJ. *Gynecology and Obstetrics*. Vol 3 Revised Ed 1-2, 1981
17. Sheffield HG, and Melton ML. Effect of pyrimethamine and sulfadiazine in the fine structure and multiplication of *Toxoplasma gondii* in cell cultures. *J Parasitol*. 1975 : 61
18. Thiermann E et al. A Comparative study of some combined regimens in acute toxoplasmosis in mice. *Am J Trop Med* 1978 : 27