
POTENCIAIS ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS

EM ESTUDO PARA A TOXOPLASMOSE CONGÊNITA:

UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Matheus Azevedo Barbosa¹, Leônidas Gomes Angelin¹, Gustavo Issamu Asai Saikawa¹, Cayo Julius Cesar de Oliveira¹, Suelen Santos da Silva², Jeanne Weber Vendruscolo³, Poliana Camila Marinello², Thiago Cezar Fujita², Sergio Paulo Dejato da Rocha³, Maria Angelica Ehara Watanabe², Regina Mitsuka-Breganó² e Idessania Nazareth Costa².

RESUMO

A toxoplasmose, infecção ocasionada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, constitui um sério problema de saúde pública, podendo ser fatal em indivíduos imunocomprometidos ou em infecções congênitas. Na toxoplasmose congênita, a doença é resultante da transferência de parasitos para o feto por via transplacentária ou durante o parto, em virtude da infecção primária da mãe, ou por reagudização. As manifestações clínicas para o neonato são diversas, com consequências potencialmente fatais ou debilitantes que podem atingir principalmente o sistema nervoso central e/ou gerar comprometimento ocular. Dependendo da fase gestacional, o tratamento atual da toxoplasmose congênita limita-se à utilização de espiramicina ou, ainda, em infecção fetal confirmada, à combinação de sulfadiazina e pirimetamina associadas ao ácido folínico. Entretanto, estes esquemas terapêuticos podem apresentar efeitos tóxicos ao embrião/feto. Diante disso, pesquisas têm analisado terapêuticas alternativas para esta infecção. Foram analisados os seguintes compostos: artemisinina, atovaquona, azitromicina e diclazuril. Observa-se que artemisinina e atovaquona podem apresentar efeitos teratogênicos dose-dependentes. Já os fármacos azitromicina e diclazuril têm apresentado resultados promissores quando utilizados em modelos murinos ou cultura de células, entretanto sua eficácia ainda não foi totalmente comprovada em humanos. Os compostos

-
- 1 Acadêmicos do curso de Biomedicina, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil.
 - 2 Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil.
 - 3 Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil.

Endereço para correspondência: Idessania Nazareth Costa, Laboratório de Parasitologia, Departamento de Ciências Patológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Rod. Celso Garcia Cid Pr 445, Km 380. Cx. Postal 10.001, CEP 86057-970, Londrina, PR, Brasil. E-mail: Idessania@hotmail.com

Recebido para publicação em: 25/11/2014. Revisto em: 28/1/2015. Aceito em: 9/2/2015.

aqui citados, embora estejam inseridos em estudos ainda experimentais e clínicos, adicionam dados e novas perspectivas para o tratamento desta infecção.

DESCRITORES: *Toxoplasma gondii*; toxoplasmose congênita; tratamento alternativo.

ABSTRACT

Potential alternative treatment studies in congenital toxoplasmosis: a literature review.

Toxoplasmosis is an infection caused by the protozoan *Toxoplasma gondii* and is a serious public health problem that can be fatal in immunocompromised individuals or congenital infections. Congenital toxoplasmosis disease results from transplacental parasite transfer to the fetus during childbirth or primary infection of the mother or acute relapse. The clinical manifestations are different for neonates, with potentially fatal or debilitating consequences that primarily affect the central nervous system and/or generate ocular involvement. Depending on the gestational stage, the current treatment of congenital toxoplasmosis is limited to the use of spiramycin or, in fetal infection, supported by the combination of pyrimethamine and sulfadiazine associated with folinic acid. However, these regimens may be toxic to the embryo/fetus. Therefore, research has examined alternative therapies for this infection and thus the aim of this manuscript was to review the main studies involving different compounds as potential treatments for congenital toxoplasmosis. Among the compounds most frequently cited in the literature as an alternative therapy for congenital toxoplasmosis, were artemisinin, atovaquone, azithromycin and diclazuril. It was observed that artemisinin and atovaquone may have teratogenic dose-dependent effects. Already azithromycin and diclazuril have shown promising results when used in murine models or cell culture, but their effectiveness has not been fully confirmed in humans. The compounds mentioned here, despite still being in experimental and clinical trials, add new data and perspectives for the treatment of infection.

KEY WORDS: *Toxoplasma gondii*; congenital toxoplasmosis; alternative treatment.

INTRODUÇÃO

Toxoplasmose é uma infecção cosmopolita ocasionada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, parasito intracelular obrigatório capaz de infectar todas as células de aves e mamíferos, exceto hemácias (Dubey et al., 2014; Hunter & Sibley, 2012). Pertence ao filo Apicomplexa com ciclo de vida heteroxeno, sendo os felídeos os hospedeiros definitivos; outras espécies de mamíferos e as aves são hospedeiros intermediários (Kawazoe & Mineo, 2011; Levine, 1988).

As principais vias de transmissão da toxoplasmose em humanos são: ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos, ingestão de cistos contendo bradizoítas em carne mal cozida ou, ainda, a via transplacentária por taquizoítas quando a mãe se infecta pela primeira vez durante a gestação ou sofre reagudização da infecção (Dubey et al., 2014; Chaudhry et al., 2014; Montoya & Remington, 2008).

De forma geral, a toxoplasmose cursa de maneira assintomática, no entanto assume caráter grave em indivíduos imunocomprometidos e na infecção congênita (McAuley, 2014; Meira et al., 2014; Kawazoe & Mineo, 2011).

A gravidade das manifestações clínicas provenientes de uma infecção congênita depende de fatores diversos como o tipo de cepa de *T. gondii* que, neste caso, podem ser cepas virulentas como a RH (tipo I), mas também cepas cistogênicas como a ME-49 (tipo II). Depende também da localização geográfica, de fatores relacionados ao hospedeiro como resistência imunológica e período gestacional (Montoya & Liesenfeld, 2004), uma vez que as complicações mais graves ocorrem nos primeiros trimestres gestacionais (Remington et al., 2006).

A infecção materna por *T. gondii* e os riscos ao embrião/feto requerem diagnóstico precoce para possível prevenção e tratamento (Oz, 2014a).

O tratamento recomendado pelo Ministério da Saúde nos casos de toxoplasmose é a associação de sulfadiazina e pirimetamina combinadas com ácido fólico. Em gestantes, esse tratamento é realizado quando há confirmação de infecção fetal (Remington et al., 2006). Durante o primeiro trimestre da gestação, caso haja infecção fetal, é indicado o tratamento com espiramicina (Kaye, 2011).

A sulfadiazina e a pirimetamina agem sinergicamente no bloqueio da via de síntese do folato por meio da inibição das enzimas dihidropteroato sintase (DHPS) e dihidrofolato redutase (DHFR), que são essenciais para a sobrevivência e replicação do parasito (Anderson, 2005). O uso de pirimetamina não é recomendado durante o primeiro trimestre de gestação por ter efeito teratogênico (Kaye, 2011; Montoya & Remington, 2008). Além disso, pirimetamina pode suprimir a atividade da medula óssea. Por esses motivos, recomenda-se a associação com ácido fólico (Montoya & Remington, 2008). Assim, se a gestante se infectar depois de 18 semanas ou se for confirmada a infecção do feto, utiliza-se a combinação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico (Montoya & Remington, 2008; Montoya & Liesenfeld, 2004).

Como já foi mencionado, no primeiro trimestre da gestação, o tratamento durante a fase aguda da doença é realizado com espiramicina, que é capaz de alcançar altas concentrações nos tecidos, prevenindo a transmissão vertical de *T. gondii* (Kaye, 2011; Elsheikha, 2008). Esta droga não oferece risco ao feto porque não é capaz de atravessar a barreira placentária. No entanto, essa é uma limitação deste medicamento, uma vez que não é capaz de combater a infecção intrauterina (Montoya & Remington, 2008).

Espiramicina pertence ao grupo dos macrolídeos que geralmente são utilizados para tratar infecções da pele e do trato respiratório causadas por bactérias (Steel et al., 2012). Além de serem eficazes contra infecções bacterianas, os macrolídeos são efetivos no combate a infecções por parasitos intracelulares como *T. gondii* e *Leishmania* spp. (Costa et al., 2009; Petropoulos et al., 2009). Estes medicamentos se ligam à subunidade 50S do ribossomo do patógeno impedindo a síntese proteica dependente de RNA (Steel et al., 2012).

Além das drogas preconizadas no tratamento da toxoplasmose, outros compostos estão sendo pesquisados como tratamento alternativo para esta infecção, destacando-se entre eles: artemisinina, que é um derivado da planta *Artemisia*

annua, composto comumente utilizado no tratamento da malária (Sarciron et al., 2000) e azitromicina que, apesar de apresentar bons resultados para o tratamento da toxoplasmose em camundongos (Degerli et al., 2003; Braz et al., 1999), ainda não é utilizada em humanos; outros fármacos como atovaquona (Oz & Tobin, 2012) e diclazuril (Oz & Tobin, 2014) estão sendo investigados.

Diante dessas informações, o objetivo desta revisão foi relatar investigações acerca de compostos que possam ser utilizados como alternativa terapêutica para a toxoplasmose congênita.

A pesquisa bibliográfica foi desenvolvida com base em literatura especializada, em periódicos disponíveis em meio eletrônico e na Biblioteca Setorial do CCB/UEL. Foram utilizadas as seguintes Bases de Dados: National Center for Biotechnology Information (NCBI), a versão eletrônica do Index Medicus (MEDLINE) e SciELO.

ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS EM ESTUDO PARA A TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

Artemisinina

Artemisinina, também conhecida como Qinghao, é um dos principais compostos oriundos da planta *Artemisia annua* (Krishna et al., 2008). Sua molécula é composta por uma lactona trioxano sesquiterpênico, com um peróxido no interior de um dos anéis de sua estrutura, o que lhe confere atividade antiparasitária (van Agtmael et al., 1999).

Derivados da artemisinina tornaram-se primeira opção para tratar indivíduos com malária causada por *Plasmodium* sp. em diversas regiões do mundo (Ivers & Ryan, 2014; Hartwig et al., 2009). Seu efeito potente para inibir a replicação deste parasito estimula as investigações de sua atividade antitoxoplásmica (Kawazoe & Mineo, 2011; Costa et al., 2009).

O mecanismo de ação da artemisinina está relacionado à quebra do peróxido no interior de sua molécula por espécies de ferro intracelulares, gerando, assim, radicais que agem na destruição de macromoléculas. Quando em interação com o parasito, a quebra do peróxido da artemisinina gera radicais peroxil, que desestruturam as membranas dos parasitos *T. gondii* e *Plasmodium* sp. (Hartwig et al., 2009).

Trabalho realizado por Costa e colaboradores (2009) demonstrou que a artemisinina, quando administrada por infusão, diminuiu significativamente o número de *T. gondii*, tanto de taquizoítas quanto de bradizoítos, nos tecidos embrionário e placentário de *Calomys callosus* (cricetídeos utilizados como modelo alternativo de toxoplasmose congênita).

Outros estudos relataram que a utilização de artemeter, um dos derivados da artemisinina, foi eficaz para diminuir o número de parasitos *in vitro*, tendo uma relação proporcional entre o efeito inibitório de *T. gondii* e a dose

administrada na cultura de células colhidas do peritônio de ratos (Holfels et al., 1994). Enquanto isso, a combinação de artesunato e diidroartemisinina induziu um intensa inibição do crescimento do parasito quando administrada em modelos animais (Sarciron et al., 2000).

A artemisinina é uma ótima escolha por ser de rápida ação, porém, como todo composto exógeno, pode apresentar efeitos adversos como a neurotoxicidade (Dhingra et al., 2000). Isso pode ser visto em ratos expostos a artemeter, um dos derivados da artemisinina, com danos neurológicos identificados em testes auditivos e histológicos (Genovese et al., 1998; Kamchonwongpaisan et al., 1997). Foi demonstrado também que a exposição a artesunato e artemeter, outros derivados da artemisinina, é capaz de gerar anormalidades dependendo da dose utilizada e da via de administração do composto, sendo a via intramuscular a mais embriotóxica (Nontprasert et al., 2000).

Atovaquona

Atovaquona é um hidroxil-1,4-nafquinona com estrutura análoga à da proteína móvel ubiquinona presente na cadeia de transporte de elétrons. Apresenta atividade contra formas taquizoítas e císticas de *T. gondii* e *Plasmodium* sp. (Dunay et al., 2004; Hudson et al., 1991).

Seu uso é restrito aos adultos, não sendo aprovado ainda para infecção materno-fetal ou em crianças (Cortina-Borja et al., 2010). Entretanto, este medicamento em modelos murinos apresentou efeito protetor contra toxoplasmose congênita e evitou complicações inflamatórias (Oz & Tobin, 2012).

Em relação a seu mecanismo de ação, este fármaco atua interrompendo o transporte de elétrons. Isso porque, sob condições fisiológicas, a transferência de dois elétrons da ubiquinona reduzida para o complexo do citocromo bc1 oxida a ubiquinona e a atovaquona inibe a interação entre a ubiquinona reduzida e o complexo do citocromo bc1 (Ivers & Ryan, 2014).

Sabe-se que parasitos do filo Apicomplexa dependem da cadeia de transporte de elétrons para regenerar a di-hidroxo-oretato redutase oxidada. Desta forma, o tratamento com atovaquona interrompe a síntese de pirimidinas e, por conseguinte, impede a replicação do DNA destes protozoários (Ivers & Ryan, 2014).

Segundo Dunay e colaboradores (2004), a atovaquona mostrou-se superior quando associada a pirimetamina e sulfadiazina ou na associação de pirimetamina com clindamicina para a inibição de inflamações cerebrais e para a severidade da infecção em camundongos por *T. gondii*, mesmo sendo casos de infecção aguda, crônica ou de reativação da doença (Djurković-Djaković et al., 2002).

Azitromicina

Azitromicina pertence a uma nova geração de macrolídeos que apresenta melhor farmacocinética, melhor concentração tecidual, poucos efeitos colaterais e

pode ser administrada em dose única diária (Goodman, 2012; Salman et al., 2010; Ramsey et al., 2003).

A estrutura da azitromicina confere maior estabilidade em meio ácido, melhores características farmacocinéticas e atividade contra microrganismos gram-negativos e gram-positivos. Desta forma, este macrolídeo possui amplo espectro de atuação com mecanismo de ação em ligação reversível à subunidade 50S do ribossomo bacteriano, inibindo a síntese de proteínas RNA-dependentes (Petropoulos et al., 2009; Torkildsen & O'Brien, 2008; Retsema & Fu, 2001).

A azitromicina, assim como a eritromicina, impede a sequência de montagem normal, culminando com o acúmulo de partículas incompletas de ribossomos que, subsequentemente, são degradadas e podem impedir a síntese proteica dos parasitos como *T. gondii*, inibindo, assim, a sua replicação (Petropoulos et al., 2009; Chittum & Champney, 1995).

Analisada tanto em modelos murinos quanto em estudos *in vitro*, a azitromicina vem apresentando resultados promissores na diminuição da infecção por *T. gondii* (Castro-Filice et al., 2014; Franco et al., 2011; Costa et al., 2009).

Estudos com a utilização de *Calomys callosus* demonstraram que o tratamento com azitromicina em fêmeas gestantes e infectadas por *T. gondii* impediu a transmissão vertical do parasito e reduziu a infecção da região ocular do feto pelo parasito (Costa et al., 2009). O mesmo efeito deste medicamento foi verificado ao ser capaz de reduzir a infecção em células BeWo quando infectadas pela cepa RH de *T. gondii* (Castro-Filice et al., 2014; Franco et al., 2011).

Em pesquisa recente com modelo de estudo de vilos de explante placentário humano infectados com taquizoítas de cepa 2 F1, Castro-Filice e colaboradores (2014) verificaram que a azitromicina não causou citotoxicidade significativa nem alterações morfológicas nos vilos, além de reduzir a proliferação intracelular do parasito.

Braz e colaboradores (1999) realizaram um trabalho utilizando camundongos infectados com *T. gondii* e tratados com a associação de azitromicina e pirimetamina. Este estudo revelou 100% de eficácia no tratamento da toxoplasmose com a associação desses medicamentos. Com o uso isolado da azitromicina, a eficácia foi de 60%. A azitromicina também se mostrou parcialmente eficiente contra cistos de *T. gondii* (Derouin, 1995). Ficou, assim, demonstrado que tal composto, além de exercer atividade antimicrobiana por meio da inibição da síntese de proteínas, atuando na subunidade 50S do ribossomo do protozoário (Degerli et al., 2003), também age sobre taquizoítas e bradizoítas de *T. gondii*. No entanto, apresenta efeito tóxico sobre o fígado (Grujić et al., 2005; Degerli et al., 2003).

Azitromicina pode ser administrada seguramente durante os três trimestres de gravidez e não possui efeitos teratogênicos (Chico & Chandramohan, 2011). Um estudo demonstrou resultados promissores no tratamento de toxoplasmose congênita em humanos por administração oral materna de azitromicina, além de

sulfadoxina (outra das sulfonamidas), pirimetamina e acetilpiramicina num caso de toxoplasmose fetal sintomática grave (Tamaru et al., 2011).

Embora este medicamento apresente resultados promissores no tratamento da toxoplasmose em roedores, seu uso em humanos ainda é restrito pela falta de dados que, efetivamente, demonstrem a ação da azitromicina e suas consequências em uma abordagem congênita da toxoplasmose (Degerli et al., 2003).

Diclazuril

O fármaco diclazuril é um antiprotozoário derivado benzenoacetoneitrílico com finalidades anticoccidíca e coccidioestática (Granstrom & Tobin, 1999).

Diclazuril atua como um potente inibidor de protozoários do gênero *Eimeria*, pertencente ao filo apicomplexa. Possui atuação sobre várias fases do parasito, impedindo a merogonia completa e causando a inibição da formação de merozoítos e oocistos (Verheyen et al., 1988).

Além das organelas típicas de organismos eucariontes, membros do filo apicomplexa como *T. gondii* apresentam organelas envolvidas no processo de adesão e invasão do parasito, como micronemas, roptrias e grânulos densos (Blader & Saeij, 2009). Também apresentam uma estrutura cromoplástica não fotossintetizante denominada apicoplasto, estrutura homóloga aos cloroplastos de plantas (Borst et al., 1984; Waller & McFadden, 2005).

As funções do apicoplasto consistem em fornecer metabólitos para a síntese de ácidos graxos, isoprenoides e precursores do heme (Qidwai & Khan, 2012). Existem transportadores de membrana no apicoplasto com a função de transportar fontes de carbono para utilização em vias de biossíntese, são os transportadores de fosfato do apicoplasto (APT). *T. gondii* possui o APT1, e o bloqueio deste transportador resulta em sua morte (Lim et al., 2010). Qidwai & Khan (2012) e DeRocher e colaboradores (2012) demonstraram, com base em estudos farmacogenéticos, que o apicoplasto é uma organela essencial para os organismos que a possuem. A eliminação do apicoplasto e a interferência no seu genoma promovem a morte do protozoário.

Os mecanismos de toxicidade do diclazuril e compostos relacionados baseiam-se no fato de que são capazes de interagir com a proteína D1 do complexo proteico FSII, localizado no apicoplasto do *T. gondii*, com elevada especificidade, sem interagir e danificar células de hospedeiros mamíferos. Além disso, podem também regular negativamente a expressão da proteína serina/treonina fosfatase em merozoítos de *Eimeria*, induzindo a morte celular e uma possível ação semelhante contra *Toxoplasma* (Oz, 2014a).

Recentemente, estudos têm apresentado bons resultados com o uso de diclazuril em modelos de experimentação com murinos para a toxoplasmose congênita e materna, sendo uma droga bem tolerada pelo hospedeiro. O tratamento

com diclazuril evitou que ratas prenhes apresentassem complicações hepáticas, anemia e excesso de peso patológico por causa da ascite (Oz & Tobin, 2014).

Trabalhos realizados por Oz (2014b; 2014c) demonstram que a associação diclazuril e atovaquona se mostrou extremamente eficaz no tratamento da toxoplasmose congênita, exercendo efeitos sinérgicos e protegendo a mãe e os filhotes das complicações relacionadas à patologia de *Toxoplasma* em experimentações com ratos.

Com a utilização de diclazuril e atovaquona (Oz, 2014b; Oz, 2014c), foram revertidas características patológicas causadas por *T. gondii* tais como: aumento do peso esplênico (esplenite), acúmulo de líquidos principalmente na região abdominal por causa da hepatotoxicidade e da cardiotoxicidade (ascite e hidrotórax), lesões necróticas pancreáticas (pancreatite), aumento da sensibilidade à dor e sinais exclusivos da toxoplasmose congênita como o aumento do peso uterino, complicações no desenvolvimento dos fetos como o baixo peso ao nascer e trabalhos de parto prematuro e natimorto.

Desta forma, tem se justificado a sugestão dos testes clínicos em toxoplasmose congênita materna, ocular aguda, crônica e no Sistema Nervoso Central não apenas como uma medida para o tratamento, mas também como uma ação profilática (Oz, 2014b; Oz, 2014c).

CONCLUSÃO

Em razão da gravidade da toxoplasmose congênita e das dificuldades com estudos experimentais que avaliem a eficácia de diferentes fármacos contra esta infecção, esta revisão possibilita uma análise dos principais estudos sobre alternativas terapêuticas adicionando novas perspectivas para o tratamento desta doença. Incentivam-se, assim, futuros estudos experimentais e clínicos considerando a possibilidade do uso desses compostos como alternativa terapêutica para a toxoplasmose congênita.

REFERÊNCIAS

1. Anderson AC. Targeting DHFR in parasitic protozoa. *Drug Discov Today* 10: 121-128, 2005.
2. Blader IJ, Saeji JP. Communication between *Toxoplasma gondii* and its host: impact on parasite growth, development, immune evasion, and virulence. *Apmis*. 117: 458-476, 2009.
3. Borst P, Overdulve JP, Weijers PJ, Fase-Fowler F, Van den Berg M. DNA circles with cruciforms from Isospora *Toxoplasma gondii*. *Biochim Biophys Acta* 781: 100-111, 1984.
4. Braz LMA, Di Pietro AO, Amato Neto V, França FO de S. Avaliação da eficácia da azitromicina e da pirimetamina, usadas isolada ou associadamente, no tratamento de infecção experimental de camundongos pelo *Toxoplasma gondii*. *Rev Soc Bras Med Trop* 32: 401-403, 1999.
5. Castro-Filice LS, Barbosa BF, Angeloni MB, Silva NM, Gomes AO, Alves CMOS, Silva DAO, Martins-Filho OA, Santos MC, Mineo JR, Ferro EAV. Azithromycin is able to control *Toxoplasma gondii* infection in human villous explants. *J Transl Med* 12: 132, 2014.
6. Chaudhry SA, Gad N, Koren G. Toxoplasmosis and pregnancy. *Can Fam Physician* 60: 334-336, 2014.

7. Chico RM, Chandramohan D. Azithromycin plus chloroquine: combination therapy for protection against malaria and sexually transmitted infections in pregnancy. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 7: 1153-1167, 2011.
8. Chittum HS, Champney WS. Erythromycin inhibits the assembly of the large ribosomal subunit in growing *Escherichia coli* cells. *Curr Microbiol* 30: 273-279, 1995.
9. Cortina-Borja M, Tan HK, Wallon M, et al. Prenatal treatment for serious neurological sequelae of congenital toxoplasmosis: an observational prospective cohort study. *PLoS Med* 7: 1-10, 2010.
10. Costa IN, Angeloni MB, Santana LA, et al. Azithromycin inhibits vertical transmission of *Toxoplasma gondii* in *Calomys callosus* (Rodentia: Cricetidae). *Placenta* 30: 884-890, 2009.
11. Degerli K, Kilimcioglu, AA, Kurt O, Tamay T, Ozbilgin A. Efficacy of azithromycin in a murine toxoplasmic model, employing a *Toxoplasma gondii* strain from Turkey. *Acta Trop* 88: 45-50, 2003.
12. DeRocher AE, Kamataki A, Vaney P, Parsons M. Apicoplast targeting of a *Toxoplasma gondii* transmembrane protein requires a cytosolic tyrosine-based motif. *Traffic* 13: 694-704, 2012.
13. Derouin F. New pathogens and mode of action of azithromycin: *Toxoplasma gondii*. *Pathol Biol* 43: 561-564, 1995.
14. Dhingra V, Vishweshwar Rao K, Lakshmi Narasu M. Current status of artemisinin and its derivatives as antimalarial drugs. *Life Sci* 66: 279-300, 2000.
15. Djurković-Djaković O, Milenković V, Nikolić A, Bobić B, Grujić J. Efficacy of atovaquone combined with clindamycin against murine infection with a cystogenic (Me49) strain of *Toxoplasma gondii*. *J Antimicrob Chemother* 50: 981-987, 2002.
16. Dubey JP, Dennis PM, Verma SK, Choudhary S, Ferreira LR, Oliveira S, Kwok OCH, Butler E, Carstensen M, Su C. Epidemiology of toxoplasmosis in white tailed deer (*Odocoileus virginianus*): occurrence, congenital transmission, correlates of infection, isolation, and genetic characterization of *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol* 202: 270-275, 2014.
17. Dunay IR, Heimesaat MM, Bushrab FN, Müller RH, Stocker H, Arasteh K, Kurowski M, Fitzner R, Borner K, Liesenfeld O. Atovaquone maintenance therapy prevents reactivation of toxoplasmic encephalitis in a murine model of reactivated toxoplasmosis. *Antimicrob Agents Chemother* 48: 4848-54, 2004.
18. Elsheikha HM. Congenital toxoplasmosis: priorities for further health promotion action. *Public Health* 122: 335-353, 2008.
19. Franco PS, Gomes AO, Barbosa BF, Angeloni MB, Silva NM, Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA, Silva DAO, Mineo JR, Ferro EAV. Azithromycin and spiramycin induce anti-inflammatory response in human trophoblastic (BeWo) cells infected by *Toxoplasma gondii* but are able to control infection. *Placenta* 32: 838-844, 2011.
20. Genovese RF, Newman DB, Li Q, Peggins JO, Brewer TG. Dose-dependent brainstem neuropathology following repeated arteether administration in rats. *Brain Res Bull* 45: 199-202, 1998.
21. Goodman G. *As Bases Farmacologicas da terapêutica*. 12ª Ed. Editora Mcgraw-Hill, Rio de Janeiro, 2012.
22. Granstrom DE, Tobin TUS. Patent No. 5,883,095. *Treatment of EPM Formulations and Methods to Treat and Prevent Equine Protozoal Myeloencephalitis*. 1999.
23. Grujić J, Djurković-Djaković O, Nikolić A, Klun I, Bobić B. Effectiveness of spiramycin in murine models of acute and chronic toxoplasmosis. *Int J Antimicrob Agents* 25: 226-230, 2005.
24. Hartwig CL, Rosenthal AS, D'Angelo J, Griffin CE, Posner GH, Cooper RA. Accumulation of artemisinin trioxane derivatives within neutral lipids of *Plasmodium falciparum* malaria parasites is endoperoxide-dependent. *Biochem Pharmacol* 77: 322-336, 2009.
25. Holfels E, McAuley J, Mack D, Milhous WK, McLeodl R. *In Vitro* Effects of Artemisinin Ether, Cycloguanil Hydrochloride (Alone and in Combination with Sulfadiazine), Quinine Sulfate, Mefloquine, Primaquine Phosphate, Trifluoperazine Hydrochloride, and Verapamil on *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob Ag Chemo* 38: 392-1396, 1994.

26. Hudson AT, Dickins M, Ginger CD, Gutteridge WE, Holdich T, Hutchinson DB, Pudney M, Randall AW, Latter VS. 566C80: a potent broad spectrum anti-infective agent with activity against malaria and opportunistic infections in AIDS patients. *Drugs Exp Clin Res* 17: 427-435, 1991.
27. Hunter CA, Sibley LD. Modulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii* virulence effectors. *Nat Rev Microbiol* 10: 766-778, 2012.
28. Ivers LC, Ryan ET. Farmacologia das Infecções Parasitárias. In: Golan DE, Tashjian AH, Armstrong EJ, Armstrong AW. *Principios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacologia*. 3ª Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2014. p.636-642.
29. Kamchonwongpaisan S, McKeever P, Hossler P, Ziffer H, Meshnick SR. Artemisinin neurotoxicity: neuropathology in rats and mechanistic studies *in vitro*. *Am J Trop Med Hyg* 56: 7-12, 1997.
30. Kawazoe U, Mineo JR. *Toxoplasma gondii*. In: Neves DP. (Ed.). *Parasitologia humana*. 12. ed. São Paulo, Atheneu, 2011. p. 163-172.
31. Kaye A. Toxoplasmosis: diagnosis, treatment, and prevention in congenitally exposed infants. *J Pediatr Health Care* 25: 355-364, 2011.
32. Krishna S, Bustamante L, Haynes RK, Staines HM. Artemisinins: their growing importance in medicine. *Trends Pharmacol Sci* 29: 520-527, 2008.
33. Levine ND. The protozoan phylum Apicomplexa. *Parasitology* 100: 501, 1990.
34. Lim L, Linka M, Mullin KA, Weber APM, McFadden GL. The carbon and energy sources of the non-photosynthetic plastid in the malaria parasite. *FEBS Lett* 584: 549-554, 2010.
35. McAuley JB. Congenital Toxoplasmosis. *J Pediatric Infect Dis Soc* 3: S30-S35, 2014.
36. Meira CS, Pereira-Chioccola VL, Vidal JE, Mattos CCB, Motoie G, Costa-Silva TA, Gava R, Frederico FB, Mattos LC. Cerebral and ocular toxoplasmosis related with IFN- γ , TNF- α , and IL-10 levels. *Front Microbiol* 5: 492, 2014. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet* 363: 1965-1976, 2004.
37. Montoya JG, Remington JS. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. *Clin Infect Dis* 47: 554-566, 2008.
38. Nontprasert A, Pukrittayakamee S, Nosten-Bertrand M, Vanijanonta S, White NJ. Studies of the neurotoxicity of oral artemisinin derivatives in mice. *Am J Trop Med Hyg* 62: 409-412, 2000.
39. Oz HS, Tobin T. Atovaquone ameliorate gastrointestinal toxoplasmosis complications in a pregnancy model. *Med Sci Monit* 18: 337-345, 2012.
40. Oz HS, Tobin T. Diclazuril Protects against Maternal Gastrointestinal Syndrome and Congenital Toxoplasmosis. *Int J Clin Med* 5: 93-101, 2014.
41. Oz HS. Maternal and congenital toxoplasmosis, currently available and novel therapies in horizon. *Front Microbiol* 5: 385, 2014a.
42. Oz HS. Novel Synergistic Protective Efficacy of Atovaquone and Diclazuril on Fetal-Maternal Toxoplasmosis. *Int J Clin Med* 5: 921-932, 2014b.
43. Oz HS. Toxoplasmosis complications and novel therapeutic synergism combination of diclazuril plus atovaquone. *Front Microbiol* 5: 484, 2014c.
44. Petropoulos AD, Kouvella EC, Starosta AL, Wilson DN, Dinos GP, Kalpaxis DL. Time-resolved binding of azithromycin to *Escherichia coli* ribosomes. *J Mol Biol* 385: 1179-1192, 2009.
45. Qidwai T, Khan F. Antimalarial drugs and drug targets specific to fatty acid metabolic pathway of *Plasmodium falciparum*. *Chem Biol Drug Des* 80: 155-172, 2012.
46. Ramsey PS, Vaules MB, Vasdev GM, Andrews WW, Ramin KD. Maternal and transplacental pharmacokinetics of azithromycin. *Am J Obstet Gynecol* 188: 714-718, 2003.
47. 48. Remington JS, Mcleod R, Thulliez P, Desmonts G. *Toxoplasmosis*. In: Remington MD, Jerome O, Klein MD, Christopher B, Wilson MD, Carol J, Baker, MD. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. 6ª Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2006. p. 947-1091.
48. Retsema J, Fu W. Macrolides: structures and microbial targets. *Int J Antimicrob Agents* 18: S3-10, 2001.
49. Salman S, Rogerson SJ, Kose K, Griffin S, Gomorai S, Baiwog F, Winmai J, Kandai J, Karunajeewa HA, O'Halloran SJ, Siba P, Ilett KF, Mueller I, Davis TM. Pharmacokinetic properties of azithromycin in pregnancy. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 360-366, 2010.

50. Sarciron ME, Saccharin C, Petavy AF, Peyron F. Effects of artesunate, dihydroartemisinin, and an artesunate-dihydroartemisinin combination against *Toxoplasma gondii*. *Am J Trop Med Hyg* 62: 73-76, 2000.
51. Steel HC, Theron AJ, Cockeran R, Anderson R, Feldman C. Pathogen- and host-directed anti-inflammatory activities of macrolide antibiotics. *Mediators Inflamm* 2012: 584262, 2012.
52. Tamaru S, Kikuchi A, Takagi K, Wakamatsu M, Horikoshi T, Ogiso Y. Fetal therapy of severe symptomatic toxoplasmosis using azithromycin. *J Obstet Gynaecol Res* 37: 953-957, 2011.
53. Torkildsen G, O'Brien TP. Conjunctival tissue pharmacokinetic properties of topical azithromycin 1% and moxifloxacin 0.5% ophthalmic solutions: a single-dose, randomized, open-label, active-controlled trial in healthy adult volunteers. *Clin Ther* 30: 2005-2014, 2008.
54. van Agtmael MA, Eggelte TA, van Boxtel CJ. Artemisinin drugs in the treatment of malaria: from medicinal herb to registered medication. *Trends Pharmacol Sci* 20: 199-205, 1999.
55. Verheyen A, Maes L, Coussemont W, Vanparijs O, Lauwers F, Vlamincx E, Borgers M, Marsboom R. *In vivo* action of the anticoccidial diclazuril (Clinacox) on the developmental stages of *Eimeria tenella*: an ultrastructural evaluation. *J Parasitol* 74: 939-949, 1988.
56. Waller RF, McFadden GI. The apicoplast: a review of the derived plastid of apicomplexan parasites. *Curr Issues Mol Biol* 7: 57-79, 2005.