

## MALARIA: COME PREVENIRE IL RISTABILIRSI DELLA TRASMISSIONE DELLA MALATTIA IN ITALIA E CONSIGLI PRATICI SULLA CHEMOPROFILASSI E CHEMOTERAPIA DELLE INFEZIONI DA *PLASMODIUM FALCIPARUM* FARMACO-RESISTENTI

E. ONORI

*Epidemiological Methodology and Evaluation Unit, Malaria Action Programme, World Health Organization, Geneva, Switzerland*

**Riassunto.** — L'autore fa il punto sulla situazione epidemiologica della malaria nel mondo, sulla base di dati forniti all'Organizzazione Mondiale della Sanità dagli Stati membri durante il 1981. Dall'analisi dell'evoluzione della situazione epidemiologica durante il decennio 1972 - 1981, risulta che c'è stato un sensibile deterioramento, espresso fra l'altro da un aumento continuo del numero dei casi importati in Europa dal 1972 al 1978, numero che è poi rimasto a livelli preoccupanti negli anni seguenti. In questi ultimi anni si è anche assistito all'insorgenza e alla rapida diffusione della resistenza del *P. falciparum* ai farmaci più comunemente usati in diverse aree del mondo. La distribuzione geografica della resistenza di questo parassita agli antifolati, ai 4-aminochinolinici, all'associazione pirimetamina-sulfadoxina ed al chinino è stata fatta oggetto di uno studio dettagliato e ampiamente documentato. L'attenzione viene poi richiamata sulle misure da prendere onde prevenire il ristabilirsi della trasmissione della malattia in zone recettive e vulnerabili. Consigli pratici vengono infine dati: (1) sulla chemoprofilassi antimalarica in soggetti non-immuni che visitino o soggiornino in aree endemiche, specialmente laddove la presenza di *P. falciparum* farmaco-resistenti sia stata confermata e (2) sulla chemoterapia della malaria, soprattutto nei riguardi di infezioni da *P. falciparum* farmaco-resistenti. Sono brevemente menzionati nuovi farmaci antimalarici che sembrano possedere un alto valore terapeutico potenziale e che sono già in fase di sperimentazione avanzata sul terreno.

**Summary** (How to prevent the re-establishment of the transmission of the disease in Italy and practical advices on chemioprohylaxis and chemotherapy of drug-resistant *Plasmodium falciparum* infections). — The author reviews the malaria epidemiological situation in the world on the basis of the information provided to the World Health Organization by the Member States. From the analysis of the evolution of the epidemiologi-

cal situation during the decade 1972-81, it appears that there has been a sensible deterioration, expressed inter alia, by a continuous increase of the number of importated cases into Europe from 1972-78, number which remained at worrying levels in subsequent years. During recent years, there has also been the appearance and rapid spread of *P. falciparum* resistance to the most commonly used drugs in different areas of the world. The geographical distribution of the resistance of this parasite to the antifolates, the 4-aminquinolines, to the combination pirimethamine-sulfadoxine and to quinine, has been carefully reviewed with a detailed documentation. Attention is then drawn to the measures to be undertaken in order to prevent the re-establishment of transmission of the disease in receptive and vulnerable zones. Practical advice is given: (1) on the anti-malaria prophylaxis in non-immune subjects visiting or living in endemic areas, especially where the presence of drug-resistant *P. falciparum* has been confirmed; (2) on the chemotherapy of malaria, above all with regard to drug-resistant *P. falciparum* infections. New antimalarial drugs, which seem to possess a high therapeutic potential value and which are already being tested in the field, are briefly mentioned.

### Introduzione

Il considerevole incremento del traffico internazionale, verificatosi in questi ultimi anni a seguito dell'accresciuto numero dei viaggiatori, sia per motivi turistici che di lavoro e commerciali, comporta un sempre maggior rischio di veicolazione ed importazione di malattie infettive parassitarie di ogni genere.

La malaria occupa certamente un posto di rilievo fra queste malattie, che potremmo definire "da importazione". Il problema malaria è tanto più importante quando si tenga conto degli sforzi effettuati in un recente passato da alcuni paesi, fra cui l'Italia, per interrompere il ciclo di trasmissione della malattia e quindi pervenire alla sua eradicazione. Data l'attualità dell'argomento, quattro riunioni speciali sono state promosse dall'Organizzazio-

\* Relazione presentata al Simposio sulla patologia tropicale di importazione, Torino, 7 maggio 1983.

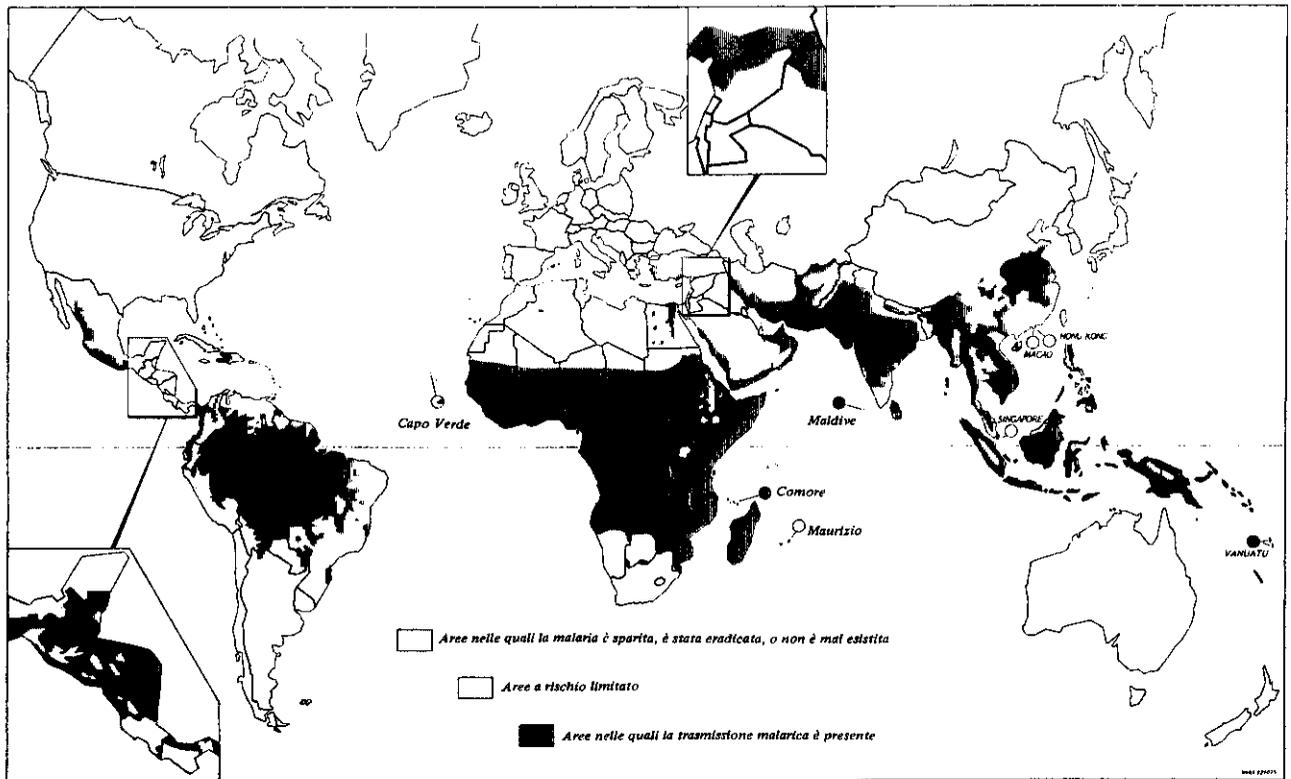


Fig. 1 – Distribuzione della malaria nel mondo (1981)

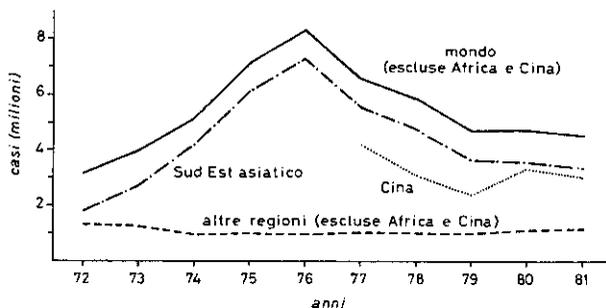


Fig. 2 – Casi di malaria segnalati (1972 - 1981)

ne Mondiale della Sanità in Europa, tramite il suo Ufficio Regionale dell'Europa a Copenhagen, in collaborazione con alcuni Stati membri dell'Organizzazione, fra cui l'Italia, e più precisamente: recettività alla malaria e ad altre malattie parassitarie (Izmir, Turchia, 11 - 15 settembre 1978) [1]; coordinazione della lotta contro la reintroduzione della malaria nei paesi del Mediterraneo orientale (Erice, Italia, 23 - 27 ottobre 1972) [2]; coordinazione delle attività antimalariche nel sud-est Europa (Sofia, Bulgaria, 3 - 6 marzo) [3]; malaria e altre malattie infettive importate nei paesi del Mediterraneo (Mahon, Spagna, 1-4 giugno 1982) [4]. Gli stati europei furono invitati nel corso delle riunioni sopra citate a prendere tutta una serie di misure al fine di prevenire il ritorno della malaria nelle zone liberate ed il lettore interessato potrà trovare informazioni dettagliate nei rapporti delle suddette riunioni. In questa sede vorremmo soffermarci su due aspetti importanti del problema: 1) breve revisione delle azioni da intraprendere onde prevenire il ristabilirsi della trasmissione della malattia in zone recettive e vulnerabili; 2) consigli pratici sulle misure da adottare

al fine di proteggere dalla malaria l'individuo che si trovi esposto al rischio (chemioprolifassi) e ad assicurare gli interventi terapeutici adeguati in casi di infezione già acquisita.

Prima di affrontare gli argomenti sopra citati, riteniamo fare il punto sulla situazione epidemiologica della malaria nel mondo e sulla distribuzione del fenomeno "farmaco-resistenza" del *P. falciparum* nelle differenti aree geografiche del globo.

#### Situazione epidemiologica della malaria nel mondo

Stime recenti fanno risalire a 1800 milioni le persone esposte al rischio della malaria nel mondo e a 103 i paesi in cui essa persista allo stato endemico. La Fig. 1 mostra la distribuzione geografica della stessa sulla base dei dati forniti all'OMS dagli Stati membri durante il 1981. L'evoluzione della situazione epidemiologica mondiale durante il decennio 1972-1981 è riassunta nella Fig. 2 e il numero dei casi importati in Europa durante lo stesso periodo è mostrato nella Fig. 3. I dati citati rappresentano soltanto una parte della realtà epidemiologica: alcuni paesi inviano infatti rapporti incompleti; in altri le attività per la ricerca sistematica dei casi sono state drasticamente ridotte non potendo far fronte allo sforzo finanziario necessario per sostenere un sistema di sorveglianza adeguato ed infine il numero dei casi segnalati si riferisce solo alle infezioni confermate microscopicamente.

Per quanto concerne l'Europa, nonostante la denuncia dei casi di malaria sia obbligatoria in quasi tutti i paesi della regione, soltanto una parte delle infezioni viene segnalata dalle autorità sanitarie ai Ministeri competenti e da questi all'OMS.

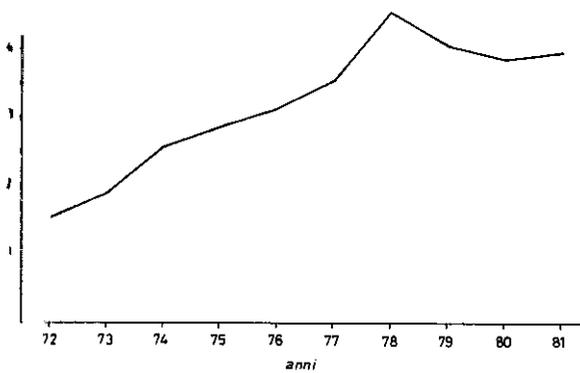


Fig. 3 - Casi di malaria importati in Europa

Osservando la Fig. 2, si noterà che l'Africa non è rappresentata. In effetti, programmi veri e propri contro la malaria non sono stati mai iniziati in questo continente e da qui la mancanza di informazioni più o meno precise. Nel 1980, sulla base dei dati raccolti nel corso di progetti di ricerca o di progetti pilota condotti durante gli anni sessanta - settanta [5], e su una classificazione dell'endemia malarica corrispondente a differenti aree ecologiche, una stima conservativa faceva ammontare a circa 190 milioni i casi di infezione (con o senza manifestazioni cliniche) e a circa 67 milioni i casi con sintomatologia acuta. Osservando ancora la Fig. 2, ci si rende conto di tre fatti fondamentali: 1) i paesi del sud-est asiatico (in primo luogo l'India) condizionano da soli l'evoluzione della situazione epidemiologica della malaria su scala mondiale; 2) il numero di casi in Cina ha oscillato fra i 4,2 milioni del 1977 (quando l'informazione fu messa a disposizione dell'OMS per la prima volta) e i 3,1 milioni dei casi del 1981; 3) escludendo l'Africa e la Repubblica Popolare di Cina, la situazione epidemiologica non è cambiata in modo significativo durante il decennio 1972 - 1981 nelle altre regioni dell'OMS, quali le Americhe, l'Europa, il Mediterraneo orientale e il Pacifico occidentale.

Dalla Fig. 3 risulta che i casi di malaria importati in Europa registrano un continuo aumento dal 1972 al 1978, nel quale ultimo anno le denunce furono 4531. Nel 1979, 1980 e 1981 le infezioni malariche importate in Europa e segnalate all'OMS furono rispettivamente 4039, 3852 e 3947.

#### La resistenza del *P. falciparum* ai vari antimalarici con relativa distribuzione geografica

Contemporaneamente al deterioramento della situazione epidemiologica della malaria nel mondo si è assistito, in questi ultimi anni, all'insorgenza e alla rapida diffusione della resistenza di *P. falciparum* ai farmaci più comunemente usati. Abbiamo già avuto l'occasione di trattare di questo argomento in una relazione presentata all'XI Congresso Nazionale di Parassitologia (Camerino, 9 - 11 settembre 1981) [6]. Oggi ci limitiamo ad ag-

giornare la situazione alla luce delle più recenti informazioni.

**Resistenza del *P. falciparum* agli antifolati (Dehydrofolate reductase inhibitors).** - A questo gruppo di farmaci appartengono il proguanil, il clorproguanil, la pirimetamina, il cycloguanil embonate e il trimethoprim.

Il proguanil, alla dose giornaliera di 100 mg per un adulto, e la pirimetamina, a dosi settimanali di 25 mg per un adulto, sono stati utilizzati per moltissimi anni come chemoprolattici individuali o di massa e senza dubbio hanno reso un grande servizio all'umanità. Oggi la resistenza del *P. falciparum* alla pirimetamina e al proguanil, o ad entrambi, è presente in molte regioni endemiche del mondo e la sua apparizione può essere prevista laddove i farmaci vengano usati o siano stati usati su vasta scala. La resistenza crociata fra proguanil, clorproguanil, pirimetamina e cycloguanil embonate è stata spesso, anche se non sempre, constatata. Ciò non è ancora avvenuto con il trimethoprim, quantunque l'insorgenza della resistenza possa essere prevista nel caso in cui il farmaco venga utilizzato su vasta scala. Per i motivi sopra citati, gli antifolici trovano sempre meno spazio nell'armamentario terapeutico contro la malaria. C'è ancora chi sostiene che risultati soddisfacenti possano essere ottenuti con il proguanil quando questo venga assunto a dosi giornaliere di 200 mg [7]. Tale asserzione è però basata su evidenze aneddotiche; uno studio, comprovante l'azione casuale profilattica del proguanil alle dosi di 200 mg giornaliere contro le forme pre-eritrocitiche del *P. falciparum*, resistenti agli antifolati e/o alla cloroquina, non è stato ancora condotto.

#### Resistenza del *P. falciparum* ai 4-aminochinolinici.

La resistenza del *P. falciparum* alla cloroquina fu dimostrata per la prima volta in Colombia [8] e Thailandia [9] agli inizi degli anni sessanta. Oggi, la resistenza interessa dieci paesi dell'America Latina (Bolivia, Brasile, Colombia, Ecuador, Guiana francese, Guiana, Panama, Perù, Surinam e Venezuela), sei paesi del sud-est asiatico (Bangladesh, Birmania, India, Indonesia, Nepal e Thailandia), e nove paesi del Pacifico occidentale (Kampuchea, Filippine, Isole Salomone, Laos, Malaysia, Papua Nuova Guinea, Repubblica Popolare Cinese, Vanuatu e Vietnam). Nel continente africano, dopo il riscontro della resistenza fra non-immuni che avevano contratto la malattia in alcuni paesi dell'Africa orientale, la stessa è stata recentemente documentata fra i semi-immuni, cioè fra le popolazioni indigene della Tanzania [10, 11], Zanzibar [12, 13], Kenia [14] e Sudan [15] (Fig. 4).

L'espansione della resistenza del *P. falciparum* alla cloroquina sembra lungi dall'arrestarsi ed alti gradi di resistenza sono oggi prevalenti nei paesi del bacino del Mekong (Kampuchea, Laos, Thailandia e Vietnam) e in alcune aree del Brasile e Venezuela. Ultimi in ordine di tempo a riportare la cloroquina-resistenza del *P. falciparum* sono stati gli stati del Bihar, Gujarat, Rajasthan e le isole di Nicobar/Andaman in India; il Perù e la Bolivia nell'America Latina.

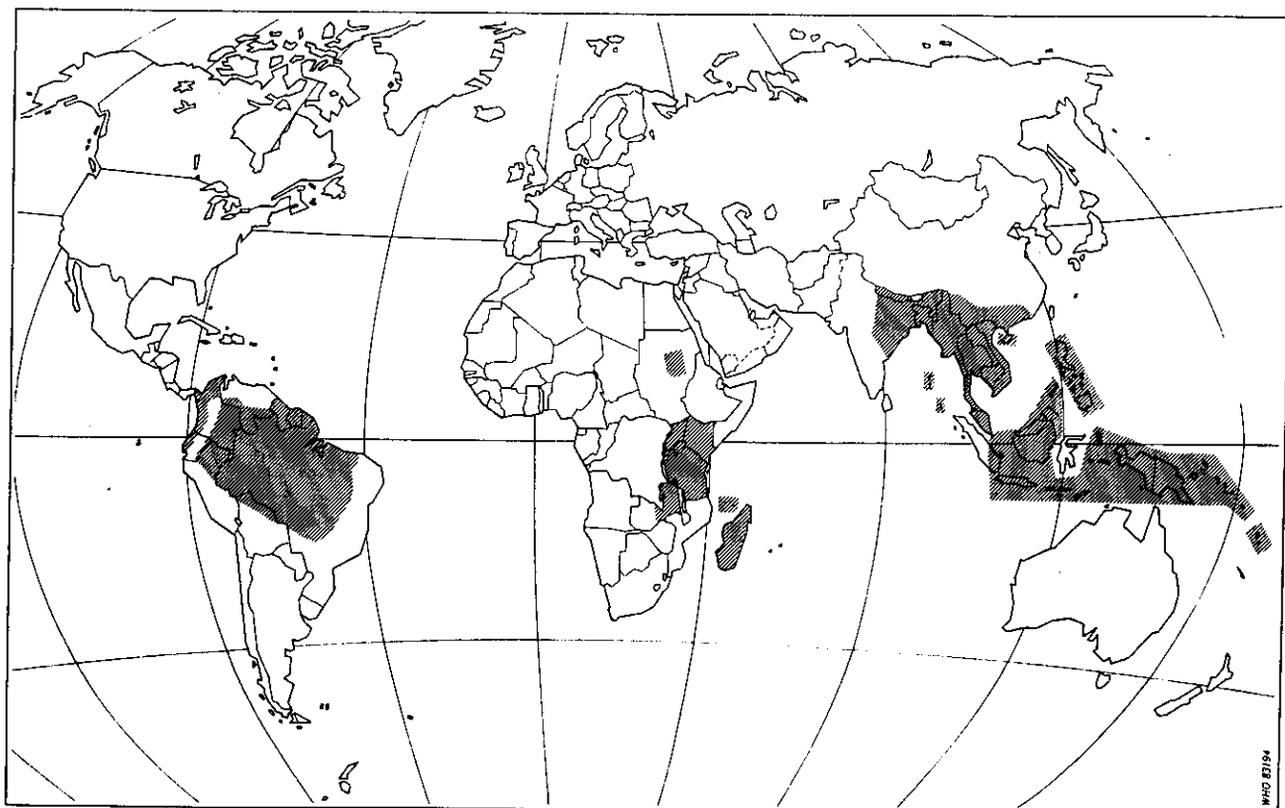


Fig. 4 — Aree e paesi con *P. falciparum* clorochino-resistenti. Febbraio 1983

*Resistenza del P. falciparum all'associazione pirimetamina-sulfadoxina (Fansidar).* — A seguito dell'insorgenza e del propagarsi della resistenza del *P. falciparum* alla cloroquina, nuovi farmaci, soli o in combinazione, e nuovi regimi terapeutici sono stati sperimentati; fra questi la combinazione pirimetamina-sulfadoxina si è dimostrata altamente efficace, sia per il trattamento [16, 17] che per la chemoprolifassi [18] delle infezioni farmaco-resistenti. Con la somministrazione coniugata di 50 mg di pirimetamina e 1000 mg di sulfadoxina in dose unica (per adulti), risultati soddisfacenti sono stati ottenuti in Thailandia [19-23], Vietnam [23, 24], Laos [25, 26], Kampuchea [27] e Malaysia occidentale [28, 29]. Una percentuale di insuccessi (10-20%) è stata peraltro riscontrata sin dall'inizio dalla maggior parte dei ricercatori. Né l'aumento delle dosi (pirimetamina 75 mg e sulfadoxina 1500 mg) è riuscito ad ovviare a questi insuccessi: in Thailandia già nel 1976 le guarigioni raggiungevano soltanto l'85% dei casi trattati con dosi elevate [30]. Gli insuccessi terapeutici venivano attribuiti ad un probabile difetto di assorbimento o ad un anomalo, rapido metabolismo della sulfadoxina [31, 32]. A partire dal 1978, le segnalazioni sull'inefficacia della terapia pirimetamina-sulfadoxina nei campi di rifugiati lungo il confine con la Kampuchea divennero sempre più frequenti; tali insuccessi concernevano il 50% circa dei casi trattati. Questi dati venivano presto confermati da studi condotti fra rifugiati [33, 34] o fra persone che avevano contratto la malattia nelle zone di confine [35, 36]. Più recentemente, nel corso di una ricerca condotta sempre in Thailandia, al fine di saggiare il valore terapeutico di cinque regimi diversi in altrettante differenti aree geografiche

del paese, la percentuale di guarigioni ottenute con l'associazione pirimetamina-sulfadoxina furono relativamente basse nell'area di confine con la Kampuchea (32%) nel nord-est (39%) e nella parte occidentale (42%) [37].

Sempre nell'ambito del sud-est asiatico, segnalazioni isolate di *P. falciparum* resistenti al Fansidar provenivano dall'Indonesia [38], Papua Nuova Guinea [39] e Malaysia [40].

Segnalazioni meno numerose, ma non per questo meno preoccupanti, giungevano da due paesi dell'America latina. Infezioni da *P. falciparum* resistenti alla somministrazione associata dei due farmaci venivano infatti riscontrate nella regione centro-orientale [41] e nella regione amazzonica del Brasile [42]; un caso resistente al Fansidar e all'associazione chinino-terramicina (ma sensibile ad una singola alta dose di cloroquina somministrata per via endovenosa) è stato segnalato nello stato di Rondônia nell'Amazzonia brasiliana [43].

Nel rapporto annuale del 1980, redatto dalla Pan American Health Organization sullo stato d'avanzamento dei programmi di lotta antimalarica nelle Americhe, la situazione veniva riassunta come segue: "Osservazioni cliniche in Brasile e Colombia indicherebbero che gli insuccessi a seguito della somministrazione dell'associazione pirimetamina-sulfadoxina sarebbero sensibilmente in aumento" [44]. In un rapporto di data più recente, l'efficacia di questo regime terapeutico, che nella metà degli anni sessanta era praticamente totale, risultava diminuita del 30-40% circa [45].

Le recenti segnalazioni di infezioni da *P. falciparum* resistenti all'associazione pirimetamina-sulfadoxina provenienti dall'Africa appaiono ancora più preoccupanti,

specie se si considera che il Fansidar non è stato finora largamente usato in questo continente per il trattamento di infezioni malariche.

Il cauto ottimismo suscitato da studi condotti sul terreno a Kisumu (Kenia), allo scopo di saggiare la sensibilità del *P. falciparum* alla pirimetamina e alla combinazione pirimetamina-sulfadoxina, veniva presto ridimensionato da segnalazioni di farmaco-resistenza provenienti da altre zone dell'Africa orientale. A Kisumu, uno studio condotto su due gruppi di bambini affetti da *P. falciparum* rivelava, nel primo, la presenza della resistenza alla pirimetamina, nel 91% dei casi saggiati col metodo *in vivo* e nel 90% di quelli saggiati col metodo *in vitro*. Nel secondo gruppo, trattato con la combinazione di pirimetamina più sulfadoxina, la parassitemia scompariva nello spazio di 2-3 giorni, senza che recrudescenze si manifestassero nella settimana successiva al trattamento [46]. Ciò potrebbe indurre a credere che detta combinazione (Fansidar) mantenga un elevato valore terapeutico, nonostante l'alta frequenza di resistenza alla pirimetamina. Purtroppo si è avuta presto la dimostrazione che l'esperienza di Kisumu non poteva essere estrapolata all'intero continente africano. Casi di *P. falciparum* altamente resistenti al Fansidar (RII, RIII) sono stati infatti segnalati dal Kenia [47-49] e dalla Tanzania [49-53]. La resistenza di *P. falciparum* al Fansidar in Africa orientale potrebbe essere spiegata con la diffusa presenza di parassiti altamente resistenti alla pirimetamina [54-56] ed alla loro persistenza anche dopo il ritiro del farmaco dalle zone interessate [57], che coinciderebbe talvolta con la resistenza alla componente sulfamidica. La sulfadoxina è stata largamente utilizzata in questi ultimi anni contro varie infezioni batteriche predominanti. Già nel 1969 furono avanzate riserve sull'uso delle combinazioni sulfamidici ritardo/pirimetamina contro la malaria in Africa, sospettandosi che tali combinazioni potessero favorire la selezione di ceppi batterici resistenti ai sulfamidici [58]. Non sappiamo molto sulla presenza ed incidenza di batteri resistenti alla sulfadoxina; osservazioni sempre più frequenti stanno peraltro mettendo in luce l'esistenza di *P. falciparum* resistenti al Fansidar.

La conferma di infezioni da *P. falciparum* resistenti alla pirimetamina-sulfadoxina è basata su osservazioni cliniche o su studi condotti *in vivo*; non disponiamo ancora di tecniche *in vitro*, anche se ricerche in questo senso sono in corso con buone prospettive di successo. La grande maggioranza dei lavori passati in rassegna riferisce di resistenza di grado elevato (RII, RIII) secondo la classificazione proposta dall'OMS per la cloroquina a seguito dell'utilizzazione del WHO Standard Field Test [59]. Sulla base delle segnalazioni sopra citate, abbiamo tracciato una mappa che indica la distribuzione del fenomeno nel mondo; vorremmo peraltro sottolineare che la resistenza del *P. falciparum* alla pirimetamina-sulfadoxina potrebbe essere molto più diffuso di quanto da noi segnalato; la disponibilità di un *in vitro* test potrebbe facilitare e migliorare le nostre conoscenze in proposito (Fig. 5). Si rimarca inoltre che la mappa è stata tracciata sulla base o di indiscutibili evidenze epidemiologiche o, come nel caso della maggior parte delle segnalazioni in-

dividuali, tenendo conto della persistenza di forme asexuate nel sangue periferico in presenza di concentrazioni seriche di sulfadoxina e pirimetamina più che sufficienti per l'eliminazione dei parassiti sensibili.

Per concludere, si deve sottolineare che, nonostante la gravità della situazione, medici non bene informati continuano a prescrivere il Fansidar come profilattico a turisti diretti verso zone dove la resistenza del *P. falciparum* alla cloroquina non è stata ancora riscontrata o quando questo tipo di profilassi non è necessario. A questo proposito, è bene ricordare che la somministrazione di Fansidar può procurare fenomeni tossici collaterali, quali quelli riscontrabili con l'uso dei sulfamidici [60]. La combinazione della sulfadoxina con un antifolico potrebbe inoltre precipitare tali fenomeni: casi di agranulocitosi, necrolisi dell'epidermide con ittero e febbre da farmaco con fotodermatite [61] o casi di sindrome di Stevens-Johnson [62, 63] sono stati recentemente segnalati in pazienti che avevano da poco iniziato la profilassi con il Fansidar.

*Resistenza del P. falciparum al chinino.* — Nella risposta del *P. falciparum* al chinino è, a volte, difficile distinguere fra differenti gradi di sensibilità al farmaco dei parassiti riscontrabili in diverse aree geografiche e vera resistenza. E' ormai un fatto accertato, comunque, che la resistenza al chinino è associata alla resistenza alla cloroquina: ceppi altamente resistenti alla cloroquina, infatti, manifestano talvolta anche una resistenza crociata con il chinino.

In alcuni paesi del sud-est asiatico, è stato in un primo tempo necessario aumentare sensibilmente le dosi e prolungare il periodo di somministrazione del chinino per ottenere risultati soddisfacenti [64, 65]. Ciononostante, specialmente nell'area del Mekong, si è osservata sempre più frequentemente un'alta percentuale di recrudescenze (30/93%) anche quando il farmaco veniva somministrato a dosi elevate e per lunghi periodi [66-68].

Una tolleranza superiore alla norma di *P. falciparum* è stata dimostrata in Irian Jaya (Indonesia Nuova Guinea) [69] e casi di resistenza sono stati infine segnalati dal Vietnam, Kampuchea [70] e Thailandia [71].

#### Misure per prevenire il ristabilirsi della trasmissione della malaria in zone recettive e vulnerabili

L'intervento preventivo dovrebbe essere esercitato sui tre elementi che sono coinvolti nella dinamica della trasmissione della malattia: il vettore, il parassita e l'uomo.

##### Misure concernenti il vettore:

- 1) nelle aree con precedenti malarici, la distribuzione, la densità e la capacità vettoriale della popolazione anofelica dovrebbero essere rimesse a giorno (valutazione della recettività);
- 2) la sensibilità dei vettori agli insetticidi dovrebbe fare l'oggetto di uno studio costante o quanto meno condotto ad intervalli regolari;
- 3) applicazione rigorosa della regolamentazione inter-

nazionale sanitaria relativa alla disinfezione dei porti e aeroporti e delle aeronavi che trasportino passeggeri e merci.

#### Misure concernenti il parassita:

1) conoscenza adeguata e aggiornata sulla situazione epidemiologica della malaria nel mondo e competenza per interventi terapeutici adeguati;

2) notificazione dei casi di malaria da parte delle unità sanitarie locali alle autorità nazionali e da queste all'OMS, soprattutto nei riguardi di casi confermati di *P. falciparum* resistenti alla cloroquina, al fine di permettere indagini dettagliate nei paesi dove la malattia è stata contratta;

3) divulgazione delle tecniche *in vivo* e *in vitro* per la valutazione sistematica della sensibilità di *P. falciparum* ai 4-aminochinolinici, sulfadoxina-pirimetamina, chinino e meflochina, con la creazione di centri nazionali per l'applicazione delle tecniche di coltura *in vitro*, necessaria soprattutto a chi si voglia dedicare alla ricerca fondamentale nella terapia e immunologia della malaria.

#### Misure concernenti l'uomo:

1) promozione di corsi di formazione di personale accademico e tecnico specializzato nella malaria e metodi di lotta antimalarica;

2) ritenzione in seno all'amministrazione sanitaria nazionale di un gruppo di personale tecnico e dell'infrastruttura specifica necessaria per intervenire rapidamente ed efficacemente nel caso dovessero verificarsi focolai di trasmissione locale;

3) stretta collaborazione fra le autorità sanitarie e i servizi di immigrazione al fine di poter agire tempestivamente in portatori di parassiti malarici al momento del loro arrivo sul territorio nazionale. E' bene ricordare che le leggi sanitarie internazionali contemplano l'esame microscopico con o senza trattamento antimalarico preventivo, di gruppi speciali di persone (rifugiati, lavoratori, studenti, pellegrini, ecc.) provenienti da zone endemiche.

L'Italia, che ha partecipato alle riunioni menzionate all'inizio di questa presentazione dove molte delle raccomandazioni qui riassunte furono formulate, ha già preso iniziative in alcuni settori. La recettività è stata di nuovo studiata in una zona della Maremma toscana dove un aumento rapido e preoccupante della densità della popolazione anofelica (*Anopheles labranchiae*) fu messa in relazione alla coltivazione del riso di recente introdotta [72], e studi dettagliati sono stati condotti sull'anofelismo delle fiumare della costa ionica calabrese [73-75]. Un corso di formazione sulla malaria e altre malattie parassitarie per professionisti provenienti soprattutto dai paesi endemici è condotto per il secondo anno consecutivo presso le Università di Roma e Palermo. Alle lezioni teoriche condotte nei due atenei italiani, fanno seguito dimostrazioni pratiche sul terreno in Turchia. Il corso è stato organizzato dall'Italia e dalla Turchia in stretta collaborazione con l'OMS ed è sovvenzionato in massima parte dal nostro paese e dall'Organizzazione Mondiale della Sanità. Personale qualificato ha seguito un corso di formazione organizzato dall'OMS al fine di acquisire

le conoscenze necessarie per iniziare la coltura del *P. falciparum in vitro*, da eseguire in due centri nazionali specializzati, la Clinica delle Malattie Infettive e Tropicali dell'Università di Milano, e l'Istituto Superiore di Sanità.

La scoperta di casi autoctoni di malaria nella vicinanza di aeroporti europei, quali quelli di Roissy, Parigi, in Francia [76-78] di Skipol, Amsterdam, in Olanda [79] e Kloten, Zurigo, in Svizzera [80], in soggetti che non avevano lasciato il loro luogo di residenza e che non avevano subito trasfusioni di sangue e che quindi avevano potuto contrarre la malattia soltanto perché aggrediti da zanzare infette importate da paesi endemici, sta ad indicare che vi è senz'altro necessità di perfezionare le misure di prevenzione da adottare nelle aree aeroportuali internazionali.

A seguito del mandato ricevuto degli Stati Membri, l'OMS divulga regolarmente l'informazione sull'evoluzione epidemiologica della malaria nel mondo servendosi del "Weekly Epidemiological Record". Pubblicazioni riassuntive quali "Synopsis of the World Malaria Situation" [81] e "Information of Malaria Risks for International Travellers" [82] e "Vaccination Certificate Requirements for International Travel and Health Advice to Travellers" [83] sono diffuse ad intervalli regolari. Consigli pratici sulla chemoprofilassi e chemoterapia della malaria vengono riveduti ed aggiornati periodicamente nei fascicoli su menzionati o fanno oggetto di una pubblicazione specifica quando se ne riconosca la necessità [84]. Al fine di permettere un aggiornamento continuo sulla estensione e diffusione del fenomeno della farmaco-resistenza e di meglio comprendere l'epidemiologia della malaria farmaco-resistente, l'OMS ha organizzato un programma globale [85], al quale sono invitati a partecipare tutti gli Stati Membri sotto la coordinazione dei Comitati di Ricerca Medica degli uffici regionali. La stessa Organizzazione produce e mette a disposizione dei paesi ed istituti interessati, dietro rimborso delle spese di produzione e di spedizione il necessario per il macro o micro test "kits" con relative note esplicative e moduli speciali per l'analisi computerizzata delle risposte di *P. falciparum* ai vari farmaci, quando la sensibilità dei parassiti venga saggiata con le tecniche *in vivo* o *in vitro*.

I risultati ottenuti sono analizzati a livello locale, regionale e globale ed i dati sulla situazione nei riguardi di *P. falciparum* resistenti ai 4-aminochinolinici sono pubblicati una volta l'anno nel "Weekly Epidemiological Records".

**Chemoprofilassi antimalarica in soggetti non-immuni che visitano o soggiornano in aree endemiche, specialmente laddove la presenza di ceppi di *P. falciparum* farmaco-resistenti è stata confermata**

La scelta dei farmaci che garantiscano la protezione dell'individuo dall'infezione malarica da *P. falciparum* diviene sempre più difficile; dobbiamo infatti riconoscere che non disponiamo di un presidio ideale che svolga incondizionatamente la sua azione profilattica; in alcu-

ne situazioni epidemiologiche il massimo a cui si possa aspirare è di somministrare farmaci che assicurino una protezione parziale.

L'argomento è stato oggetto di una recente pubblicazione della Organizzazione Mondiale della Sanità [84]; Ci limitiamo qui a riassumerne i punti più salienti, soprattutto nei riguardi di due gruppi di persone il cui trattamento profilattico potrebbe richiedere precisi orientamenti da parte dei sanitari italiani. Ci riferiamo più specificamente a persone non-immuni che intendano visitare aree malariche per brevi periodi di tempo o che debbano soggiornare più prolungatamente per motivi di lavoro in zone endemiche.

*Viaggiatori non-immuni.* — I 4-aminochinolinici (clorochina, amodiachina) rimangono i farmaci di scelta per la protezione contro le infezioni da *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* e da *P. falciparum* clorochino-sensibili. Le dosi raccomandate sono 300 mg o 400 mg di clorochina o amodiachina (dose per adulti) somministrate ad intervalli di una settimana. Onde far sì che i farmaci raggiungano rapidamente e mantengano il livello plasmatico ottimale, è necessario ripetere la dose durante il secondo giorno di profilassi. Dosi doppie, come raccomandato in alcune sedi (600 mg di clorochina per un adulto) non sono giustificate, non essendovi prove conclusive di migliori risultati; per contro, esistono indicazioni valide che le dosi elevate espongono al rischio di retinopatia. Il successo della chemoprofilassi con i 4-aminochinolinici in zone con *P. falciparum* clorochino-sensibili dipende dalla regolarità con la quale il farmaco viene ingerito. E' stato dimostrato che anche in zone dove la resistenza alla clorochina ha fatto la sua apparizione, ma è rimasta a un grado relativamente basso (RI), molte delle infezioni si manifestano soltanto dopo l'interruzione del trattamento. Da qui la necessità di continuare la chemoprofilassi per 4-6 settimane dopo il ritorno dalle zone endemiche e di informare il paziente che evenienze del genere possano verificarsi.

Il Fansidar (pirimetamina-sulfadoxina, nel rapporto di 1:20) o il Maloprim (pirimetamina-dapsone, nel rapporto di 1:8) alla dose di una compressa alla settimana, sono ora utilizzati come chemoprofilattici in aree con una alta frequenza e un grado elevato (RII, RIII) di infezioni da *P. falciparum* clorochino-resistenti (alcuni paesi dell'America e del sud-est asiatico). L'associazione Fansidar-clorochina o Maloprim-clorochina è indispensabile per proteggersi simultaneamente da infezioni da *P. falciparum* e da quelle da *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*.

Non tutti sono d'accordo nel preferire il Maloprim al Fansidar. Si deve ricordare anzitutto che ambedue i farmaci possono dar luogo a fenomeni tossici in pazienti particolarmente sensibili ai sulfamidici o se somministrati per lunghi periodi di tempo, come riferito in altra parte di questa presentazione. L'efficacia della combinazione dapsone- o sulfadoxina-pirimetamina è dovuta ad un potenziamento dell'effetto singolo dei due farmaci, per raggiungere il quale essi dovrebbero rimanere nel sangue in dosi sufficienti per tutto il periodo previsto.

Con il Maloprim, la persistenza del dapsone a livelli ematici soddisfacenti è molto più breve di quello della pirimetamina. Inoltre, sempre con il Maloprim, il contenuto in pirimetamina di ciascuna compressa è esattamente la metà di quello esistente in una compressa di Fansidar.

Recentemente, l'uso del Fansidar come profilattico è stato raccomandato anche in zone dove la frequenza e la distribuzione della clorochina-resistenza è ancora un fenomeno alquanto limitato e di un grado relativamente basso (RI) come in Africa orientale [83] (Fig. 5).

Nell'impossibilità di conoscere a priori la distribuzione e i differenti gradi di resistenza dei *P. falciparum* in Africa, tenendo conto che infezioni possono verificarsi nonostante l'ingestione regolare di clorochina ed infine allo scopo di preservare il più a lungo possibile l'efficacia dell'associazione pirimetamina-sulfadoxina, siamo dell'avviso che in Africa (inclusi quei paesi dove la presenza della clorochina-resistenza è stata confermata) il paziente debba ancora affidarsi ai 4-aminochinolinici. Egli dovrebbe però avere a disposizione almeno tre compresse di Fansidar (dose per adulti) o più dosi in caso di soggiorni prolungati, da essere utilizzate al manifestarsi di episodi febbrili. Lo stesso paziente dovrebbe rivolgersi a centri specializzati per una conferma diagnostica non appena ciò si renda possibile.

Si sottolinea ancora che tanto il Maloprim quanto il Fansidar non possono essere somministrati a donne gestanti e a bambini in tenera età; questi gruppi possono essere protetti soltanto con i 4-aminochinolinici e con una terapia pronta ed adeguata nell'eventualità di una infezione confermata microscopicamente o clinicamente sospettata.

*Non-immuni resistenti in zone malariche.* — Pazienti che risiedono in zone infestate da *P. falciparum* clorochino sensibili, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* possono far ricorso alla chemoprofilassi con la clorochina che, alle dosi sopra raccomandate, è scevra di fenomeni tossici collaterali ed assicura un buon livello di protezione. In zone dove il *P. falciparum* è stato riconosciuto resistente alla clorochina ma ad un grado basso (RI), la profilassi alla clorochina è ancora consigliabile, purché il Fansidar sia disponibile per il trattamento di episodi febbrili. Se il soggiorno in zone altamente endemiche dovesse prolungarsi per periodi oltre i 6/7 anni, il continuo uso della clorochina potrebbe rivelarsi molto più dannoso alla salute che un episodio malarico prontamente diagnosticato e trattato. In questi casi è preferibile sottomettere il paziente alla chemoprofilassi con la clorochina durante i mesi in cui la trasmissione della malattia raggiunge i massimi livelli, ed affidarsi durante i mesi a bassa trasmissione ai vecchi metodi, tendenti ad evitare il contatto fra uomo e vettore (zanzariere, evitare di rimanere fuori dell'abitazione dal tramonto all'alba, l'uso di repellenti e di camicie con maniche lunghe, ecc.) e all'intervento terapeutico immediato nel caso di episodi febbrili. Queste stesse misure potrebbero preferirsi alla chemoprofilassi, dovunque il rischio di esposizione all'infezione sia basso.

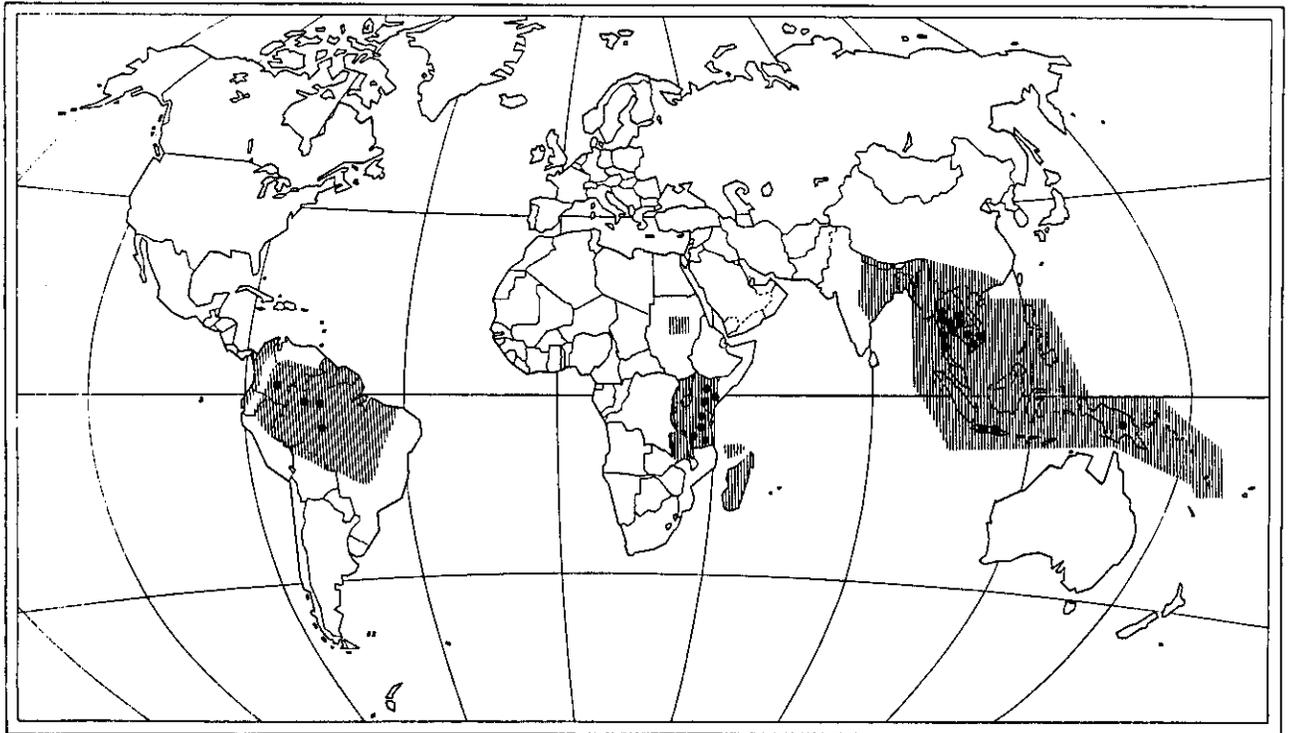


Fig. 5 — Aree e paesi con *P. falciparum* clorochino- e Fansidar-resistenti. Febbraio 1983

Nelle zone dove il *P. falciparum* è altamente resistente alla cloroquina e dove spesso è anche resistente all'associazione pirimetamina-sulfadoxina, ci sembra di poter affermare che oggi non disponiamo più di farmaci che possano garantire un'adeguata protezione. Onde evitare l'insorgenza di fenomeni tossici, che a volte potrebbero minacciare la vita del paziente specialmente con l'ingestione dei farmaci prolungata nel tempo, si fa ricorso all'associazione cloroquina-Fansidar per periodi limitati (alta trasmissione) o ci si affida ai metodi di protezione individuale sopra menzionati. In quest'ultimo caso è indispensabile che il residente conosca un centro specializzato cui rivolgersi in caso di eventuali manifestazioni febbrili, sia per una precisazione diagnostica che per la somministrazione di una terapia adeguata ai parassiti locali.

#### Chemoterapia della malaria

In questa sede ci si limita a riassumere le nozioni fondamentali sulla terapia della malattia e a dare qualche consiglio pratico soprattutto nei riguardi della terapia di *P. falciparum* farmaco-resistenti. Per un aggiornamento più preciso e informativo sull'argomento, quale per esempio il trattamento di forme severe con o senza complicazioni cerebrali, renali, ecc., il lettore interessato potrà rivolgersi a pubblicazioni specifiche sull'argomento [60]. Lo scopo principale del trattamento della malaria è quello di eliminare le forme asexuate dei plasmodi dal sangue periferico e degli organi interni, e quello di prevenire l'insorgenza di recrudescenze e recidive dell'infezione.

Con il *P. falciparum* il duplice scopo è raggiungibile

con la somministrazione di uno schizonticida efficace, dato che questo parassita non presenta uno stadio latente pre-eritrocitico. Quando il *P. falciparum* è sensibile ai 4-aminochinolinici, si ottengono risultati estremamente rapidi e soddisfacenti con la somministrazione di cloroquina o amodiaquina alla dose rispettivamente di 1,5 o 1,2 g in tre giorni (dose per adulto).

In infezioni da *P. vivax* e *P. ovale*, i 4-aminochinolinici alle dosi su menzionate pervengono normalmente all'eliminazione dei trofozoiti e gametociti; per l'eliminazione di forme latenti pre-eritrocitiche nel fegato, responsabili delle recidive, è necessario aggiungere un 8-aminoquinolinico quale la primachina, alla dose di 15 mg al giorno per 14 giorni (dose per adulto).

Nel caso di *P. falciparum* resistenti ai 4-aminochinolinici, l'azione schizonticida può essere ottenuta con la somministrazione di farmaci "di seconda linea" quali il Fansidar, o di "terza linea" quale il chinino, da solo o in associazione con il Fansidar o antibiotici.

I dati anamnestici forniti dal paziente, quali i nomi dei luoghi visitati recentemente o la menzione di regimi terapeutici ai quali esso sia stato eventualmente sottoposto, dovrebbero già far sospettare l'eventualità di trovarsi di fronte a un'infezione da *P. falciparum* farmaco-resistente. Nel caso che i 4-aminochinolinici non siano stati somministrati di recente, si consiglia di iniziare il trattamento con la cloroquina (25 mg base/kg in tre giorni) e di procedere quotidianamente ad un esame microscopico del sangue del paziente per un periodo minimo di sette giorni. Le forme asexuate di *P. falciparum* altamente sensibili alla cloroquina, normalmente spariscono dalla circolazione periferica entro 72 ore dalla

Tabella 1. — Dosaggi di Fansidar e chinino in casi di resistenza di *P. falciparum* alla cloroquina

Gruppi di età	Pirimetamina—sulfadoxina (Fansidar)	Regime
Meno di un anno a tre anni	250 mg/12,5 mg (1/2 compressa)	Dose singola
4-9 anni	500 mg/25 mg (1 compressa)	Dose singola
Al di sopra dei 10 anni	1000-1500 mg/50-75 mg (1 compressa)	Dose singola
Chinino (in mg)		
Meno di un anno	100-200*	Dosi totali giornaliere da somministrare in 3 volte e continuate per un periodo di 7-10 giorni
1-3 anni	200-300*	
4-6 anni	300-500*	
7-11 anni	500-1000*	
12-15 anni	1000-2000*	
adulti (16 anni e più)	2000*	

\* Secondo il peso corporeo, severità di sintomi clinici, grado di parassitemia, ecc.

prima somministrazione del farmaco per non più riapparire nelle settimane seguenti; la loro persistenza durante i sette giorni di osservazione è invece indice di resistenza alla cloroquina (RII, RIII). Forme asessuate di parassiti, che vengono classificati come resistenti ma ad un grado relativamente basso (RI), riappaiono nel sangue periferico fra l'8° o il 28° giorno dalla prima somministrazione del farmaco. Per diagnosticare queste infezioni, è necessario o prolungare il periodo di osservazione del paziente per 28 giorni dopo l'inizio della terapia in ambiente scevro da possibilità di reinfezioni, o procedere subito, prima dell'inizio della terapia, allo studio *in vitro* della sensibilità del parassita utilizzando sia il macro [87] che il micro [88] test.

Onde essere sicuri che la cloroquina somministrata sia stata regolarmente assorbita, e quindi in grado di esercitare la sua azione schizonticida, è indispensabile quantificare la concentrazione serica del farmaco durante la somministrazione [89].

Casi di resistenza conclamata di *P. falciparum* alla cloroquina devono essere trattati o con il Fansidar o con il chinino ai dosaggi riportati in Tab. 1.

Nel caso di resistenza al Fansidar ed al chinino, buoni risultati possono essere ottenuti con la somministrazione di chinino alle dosi sopra indicate per 3 giorni, seguito da pirimetamina-sulfadoxina [90], o con la somministrazione di chinino (dose per adulto: 3 x 600 mg al giorno per 7/10 giorni) seguito da [60]: tetraciclina, 4 x 250 mg al giorno per 7 giorni, oppure minociclina, 1 x 200 mg al giorno per 7 giorni, oppure doxiciclina, 2 x 100 mg al giorno per 7 giorni.

Da questa breve revisione della situazione sulla chemioterapia della malaria, soprattutto nei riguardi del *P. falciparum* farmaco-resistente, si può facilmente

dedurre l'urgente bisogno di farmaci alternativi.

E' stato dimostrato che la meflochina [91], da sola o in combinazione con la pirimetamina-sulfadoxina, è altamente attiva contro il *P. falciparum* clorochino resistente. Studi sulla tolleranza al farmaco di speciali gruppi di persone (gestanti, bambini, ecc.) sono in avanzata fase di esecuzione e tutto lascia sperare che il farmaco sarà disponibile sul mercato prima della fine del 1983.

Un altro prodotto oggetto di studio è l'Artemisunato, un derivato del Quing-hao-su, solubile in acqua. Data la sua rapida azione schizonticida, superiore a quella della cloroquina e del chinino, e alla sua attività contro le forme asessuate del *P. falciparum* clorochino-resistenti, esso sembra poter giocare un ruolo prominente nel trattamento dei casi gravi di malaria pernicioso [92]. Un "phenanthrenemethano", l'Holofantrine (WR 171, 669) si è dimostrato attivo contro infezioni da *P. falciparum* clorochino-resistenti [93]. Esperimenti su animali avrebbero dimostrato la sua inefficacia contro *P. falciparum* meflochino-resistenti; comunque, risultati preliminari e non confermati di studi condotti *in vitro* con cloni meflochino-resistenti, suggerirebbero che tale opinione potrebbe essere riveduta.

Infine, si rileva che recentemente c'è stato un piccolo ma significativo aumento del numero delle compagnie farmaceutiche interessate alla ricerca nel campo della chemioterapia della malaria e vi è speranza che nuovi antimalarici possano essere sottoposti a sperimentazioni cliniche in un prossimo futuro.

Ricevuto il 16 settembre 1983.

Accettato il 17 settembre 1983.

## BIBLIOGRAFIA

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1979. *Receptivity to malaria and other parasitic diseases*. Report on a WHO Working Group, Izmir, Turkey, 11-15 September 1978. WHO/EURO, Copenhagen. EURO Reports and Studies, 15.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1980. *Coordination de la lutte contre la reintroduction du paludisme dans les pays de la Méditerranée occidentale*. Rapport sur la Réunion d'un Groupe de Travail. Erice, Italie, 23-27 octobre 1979. WHO/EURO, Copenhagen. Offset Document, ICP/MPD, 008.
3. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1980. *Coordination of antimalaria activities in South-East Europe*. Report on a WHO Meeting. Sofia, Bulgaria, 3-6 March 1980. WHO/EURO, Copenhagen. Offset Document, ICP/MPD, 007.
4. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1982. *Malaria and other imported diseases in Mediterranean countries*. Report on a WHO Coordination Meeting. Mahon, Spain, 1-4 June 1982. EURO/WHO, Copenhagen. Offset Document, ICP/MPP 002.
5. KOUZNETSOV, R. L. 1977. Malaria control by indoor spraying of residual insecticides. *Trop. Doctor* 7: 81-91.
6. ONORI, E. 1981. Resistenza di *Plasmodium falciparum* agli antimalarici: implicazioni pratiche e prospettive di controllo. *Parassitologia*, 23: 31-62.
7. ROSS INSTITUTE. 1981. Malaria prevention in travellers from the United Kingdom. *Br. Med. J.* 283: 214-218.
8. YOUNG, M.D. & MOORE, D. V. 1961. Chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 10: 317-320.
9. HARINASUTA, T., MIGASEN, S. & BUNNAG, D. 1962. UNESCO 1st Symposium on scientific knowledge of tropical parasites. Singapore, 5-9 November. pp. 148-153.
10. ONORI, E., PAYNE, D., GRAB, B.I., ALMEIDA, F. J. & JOIA, H. 1982. Incipient resistance of *Plasmodium falciparum* to chloroquine among a semi-immune population of the United Republic of Tanzania. I. Results of *in vivo* and *in vitro* studies and of an ophthalmological survey. *Bull. WHO* 60: 77-87.
11. VARNAY, F., BANHEGYI, D., MISKOVITS, E. & SANTHA, M. 1981. *Chloroquine-resistant malaria cases imported from Tanzania*. WHO, Geneva. Unpublished document, WHO/MAL. 81.943.
12. SCHWARTZ, I.K., PAYNE, D., CAMPBELL, C.C. & KHATIB, O.J. 1983. Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Zanzibar. A combined *in vivo* and *in vitro* assessment. *Lancet* i: 1003-1005.
13. CAMPBELL, C.C., PAYNE, D., SCHWARTZ, I.K. & KHATIB, O.J. 1983. Evaluation of amodiaquine treatment of chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Zanzibar. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* 32: 1216-1220.
14. SPENCER, H.C. & KASEJE, C. 1983. *Comunicazione personale*.
15. AL TAWIL, N. & AKOOD, M.A. 1983. *Response of falciparum malaria to a standard regimen of chloroquine in Khartoum province, Sudan*. WHO, Geneva. Unpublished document, WHO/MAL/83.991.
16. CHIN, W., CONTACOS, P.G., COATNEY, G.R. & KING, H.W. 1966. The evaluation of sulfonamides, alone or in combination with pyrimethamine, in the treatment of multi-resistant falciparum malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 15: 823-829.
17. LAING, A.B.G. 1970. Studies on the chemotherapy of malaria. I. Treatment of overt falciparum malaria with potentiating combinations of pyrimethamine and sulformethoxine or dapson. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 64: 562-568.
18. O' HOLOHAN, D.R. & HUGOE-MATTHEWS, J. 1971. Malaria suppression and prophylaxis on a Malaysian rubber estate: sulformethoxine-pyrimethamine single monthly dose vs chloroquine single weekly dose. *South-East Asian J. Trop. Med. Public Health* 2: 164-168.
19. HARINASUTA, T. 1972. *Unpublished observations*.
20. CHIN, W., DEAR, D.M., COLWELL, E.J. & KOSAKAL, S. 1973. A comparative evaluation of sulfalene/trimethoprim and sulformethoxine-pyrimethamine against falciparum malaria in Thailand. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 22: 308.

21. SEGAL, H.E., CHINVANTHANANOND, P., LAIXUTHAL, B., PEARLMAN, E.J., HALL, A.P., PHINTUYOTHIN, P., NANAKORN, A. & CASTANEDA, B.F. 1975. Comparison of diaminodiphenylsulphone-pyrimetamine and sulfadoxine-pyrimethamine combinations in the treatment of falciparum malaria in Thailand. *Br. Med. J.* 2 (5691): 15-17.
22. HALL, A.P. 1976. The treatment of Malaria. *Br. Med. J.* 1: 323.
23. BARTELLONI, P.J., SHEEBY, T.W. & TIGERTT, W.D. 1967. Combined therapy for chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* infection. Current use of long-acting sulphormethoxine and pyrimethamine. *J. Am. Med. Assoc.* 199: 173-177.
24. RYAN, B.P. 1975. Sulfadoxine and pyrimethamine in the treatment of falciparum malaria in Vietnam. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 69: 1-12.
25. EBISAWA, I., MUTO, T., KAMEKO, S. & MITSUI, G. 1970. Response of Laotian malaria strains to chemotherapy. *Jpn. J. Exp. Med.* 40: 151.
26. AL TAWIL, N. 1978. Clearance of falciparum parasitaemia with a single dose sulfadoxine-pyrimethamine in Vientiane, Laos. *South-East Asian J. Trop. Med. Public Health* 9: 409-413.
27. VERDRAGER, J. & RICHE, A. 1969. Action de l'association diaphénylsulfone-pyriméthamine sur le paludisme à *Plasmodium falciparum* au Cambodge. *Bull. WHO* 40: 319-324.
28. McKELVEY, T.P.H., LUNDIE, A.R.L., VANREENEN, R.M., WILLIAMS, E.D.H., MOORE, H.S., THOMAS, M.J.G., WORSLEY, E.D. & CRAWFORD, I.P. 1971. Chloroquine-resistant falciparum malaria among British service personnel in West Malaysia and Singapore. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 65: 286-304.
29. WOLFENBERGER, H.R. 1971. Curative and suppressive treatment of *P. falciparum* malaria with oral and parental Fansidar. *South-East Asian J. Trop. Med. Public Health* 2: 39-43.
30. DOBERSTYN, E.B., HALL, A.P., VETVUTANAPIBUL, K. & SONKOM, P. 1976. Single dose therapy of falciparum malaria using pyrimethamine in combination with diformyl dapson or sulfadoxine. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 25: 14-19.
31. TRENHOLME, M.G., WILLIAMS, R.L., FRISHER, H., CARSON, P.E. & RIECKMAN, K.H. 1975. Host failure in treatment of malaria with sulfalene and pyrimethamine. *Ann. Intern. Med.* 82: 219-223.
32. WILLIAMS, R.L., TRENHOLME, G.M., CARSON, P.E., FRISHER, H. & RIECKMAN, K.H. 1978. The influence of acetylator phenotype on the response to sulfalene in individuals with chloroquine-resistant falciparum malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 27: 226-231.
33. REACHER, M., CAMPBELL, C.C., FREEMAN, J., DOBERSTYN, E.B. & BRANDLING-BENNET, A.D. 1980. Drug therapy for *Plasmodium falciparum* malaria resistant to pyrimethamine-sulfadoxine (Fansidar): A study of alternate in eastern Thailand. *Lancet* ii: 1066-1069.
34. HURWITZ, E.S., JOHNSON, D. & CAMPBELL, C.C. 1981. Resistance of *Plasmodium falciparum* malaria to sulfadoxine-pyrimethamine (Fansidar) in a refugee camp in Thailand. *Lancet* i: 1068-1070.
35. DIXON, K.E., WILLIAMS, R.G., PONGSUPAT, T., PITAKTONG, U. & PHINTUYOTHIN, P. 1982. A comparative trial of mefloquine and Fansidar in the treatment of falciparum malaria: failure of Fansidar. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 76: 664-667.
36. JOHNSON, D.E., ROENDEJ, P. & WILLIAMS, R.G. 1982. Falciparum malaria acquired in the area of the Thai-Khmer border resistant to treatment with Fansidar. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31: 907-912.
37. PINICHPONGSE, S., DOBERSTYN, E.B., CULLEN, J.R., YISUNSRI, L., THONGSOMBUM, Y. & THIMASARN, K. 1982. An evaluation of five regimens for the outpatient therapy of falciparum malaria in Thailand, 1982. *Bull. WHO* 60: 907-912.
38. RUMANS, L.W., DENNIS, D.T. & ATMOSOEDJONO, D. 1979. Fansidar resistant falciparum malaria in Indonesia. *Lancet* ii: 580-581.
39. DARLOW, B., VRBOVA, H., STACE, J., HEYWOOD, P. & AALPERS, M. 1980. Fansidar-resistant falciparum malaria in Papua New Guinea. *Lancet* ii: 1243.

40. BLACK, F., BYGBJERT, I., EFFERSON, P., GOMME, G., JEPSEN, S. & JENSEN, A. 1981. Fansidar resistant malaria acquired in South-East Asia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 75: 715-716.
41. ALMEIDA NETTO, J.C. de, OLIVEIRA, G.S.C de, & SAMPAIO, J.A.P. 1972. Resistencia do *Plasmodium falciparum* à associaçao sulfamidicos-antifolonicos na regioao Centro-Oeste do Brasil: dados referentes ao estudio de 104 casos. *Rev. Pathol. Trop.* 1: 385-393.
42. FERRARONI, J.J., ALENCAR, F.H & SHRIMPTON, R. 1983. Multiple drug resistance from Brazil. *Trans. Roy. Soc. Med. Hyg.* 77: 138-139.
43. ALENCAR, F.H., FERRARONI, J.J. & SHRIMPTON, R. 1982. Resistência do *Plasmodium falciparum* ao Fansidar, quinina e tetraciclina. *Rev. Saude Publica.* 16: 299-302.
44. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. 1980. *Status of malaria programmes in the Americas.* XXIX Report, Washington, p. 23.
45. UNITED NATIONS DEVELOPMENT PROGRAMME/WORLD BANK/ WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1982. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. *Drug resistant malaria. Report of a meeting held in Kuala Lumpur, Malaysia, 10-15 August 1981.* WHO, Geneva. p.30.
46. NGUYEN-DINH, P., SPENCER, H.C., CHEMANGEY-MASABA, S. & CHURCHILL, F.C. 1982. Susceptibility of *Plasmodium falciparum* to pyrimethamine and sulfadoxine-pyrimethamine in Kisumu, Kenya. *Lancet* i: 823-825.
47. MARKWALER, K.A. & MEYER, H.E. 1982. Possible sulfadoxine-pyrimethamine resistance in *Plasmodium falciparum* malaria from Kenya. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 76: 281.
48. HERZOG, Ch., LAMBERT, H.P., MANGDAL, H.P., WARHUST, D.C. & ROGERS, H.J. 1982. Pyrimethamine-dapsone resistant *falciparum* malaria imported from Kenya. *Lancet* i: 119-1120.
49. EICHENLAUB, D., ROGLER, G., HOFFMANN, H.G. & WEISE, H.J. 1982. *Falciparum* malaria despite pyrimethamine-sulfadoxine prophylaxis in five tourists to East Africa. *Lancet* i: 1041-1042.
50. STAHEL, E., DEGREMONT, A. & LAGLER, U. 1982. Pyrimethamine-sulfadoxine resistant *falciparum* acquired at Dar-es-Salaam, Tanzania. *Lancet* i: 1118-1119.
51. TIMMERMANN, P.M., HESS, U. & JONES, M.E. 1982. Pyrimethamine-sulfadoxine resistant *falciparum* malaria in East Africa. *Lancet* i: 1181.
52. DE GEUS, A., MEUWISSEN, J.H.E.Th. & VAN RIJN, A. 1982. A case of Fansidar-resistant *Plasmodium falciparum* from Tanzania. *Trop. Geogr. Med.* 34: 261-263.
53. VLEUGELS, M.P.H., WESTYN, J.C.F.M. & MEUWISSEN, J.H.E.Th. 1982. Fansidar-resistant *Plasmodium falciparum* infection from Tanzania. *Trop. Geogr. Med.* 34: 263-265.
54. AVERY-JONES, S. 1954. Resistance of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium malariae* to pyrimethamine following mass treatment with this drug. A preliminary note. *East Afr. Med. J.* 31: 47-49.
55. AVERY JONES, S. 1958. Mass treatment with pyrimethamine. A study of resistance and cross-resistance resulting from a field trial in the hyperendemic area of Makueni, Kenya (September 1952 - September 1953). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 52: 547-561.
56. CLYDE, D.F., & SHUTE, D.G. 1954. Resistance of East African varieties of *Plasmodium falciparum* to pyrimethamine. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 6: 495-500.
57. KOUZNETSOV, R.L., STOREY, J., KILAMA, W.L. & PAYNE, D. 1980. *Spread of Pyrimethamine-resistant strains of Plasmodium falciparum into new areas of north-east Tanzania in the absence of drug pressure.* WHO/Geneva. Unpublished document WHO/MAL/80.926.
58. LUCAS, A.O., HENDRICKSE, R.G., OKUBADEJO, A., RICHARDS, W.H.G., NEAL, R.A. & KOFIE, B.A.K. 1969. The suppression of malarial parasitaemia by pyrimethamine in combination with dapsone or sulphomethoxine. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 63: 216-229.

59. WHO Tech. Rep. Ser. 1973. 529: 30.
60. BRUCE—CHWATT, L.J., BLACK, R.H., CANFIELD, D.F., CLYDE, D.F., PETERS, W. & WERNSDORFER, W.H. 1981. *Chemotherapy of malaria*. 2. ed. WHO, Geneva.
61. OLSEN VESTERGAARD, V., LOFT, S. & CHRISTENSEN, K.D. 1982. Serious complications during malaria chemoprophylaxis with pyrimethamine—sulfadoxine. *Lancet* i: 994.
62. BENTSSON, E. Quoted by Olsen *et al.*
63. HORNSTEIN, O.P. & RUPRECHT, K. 1982. Fansidar—induced Stevens—Johnson syndrome. *New Engl. J. Med.* 24: 1529—1530.
64. SUCHARIT, P., SUNTHARASAMAI, P., CHINTANA, T. & HARINASUTA, T. 1979. *In vivo* and *in vitro* studies of quinine sensitivity of *Plasmodium falciparum* in Thailand. *South—East Asian J. Trop. Med. Public Health* 10: 138—141.
65. HARINASUTA, T., SUNTHARAMASAI, P. & VIRAWAN, C. 1966. Chloroquine—resistant falciparum malaria in Thailand. *Lancet* ii: 657—660.
66. SHEEBY, T.W. & REBA, R.C. 1967. Treatment of chloroquine—resistant *Plasmodium falciparum* from Vietnam. *Ann. Intern. Med.* 66: 616—622.
67. REED, W.P., REINSTEIN, M. & STEIGER, B.W. 1968. Early experiences in the treatment of falciparum malaria from South—east Asia. *J. Am. Med. Assoc.* 205: 131—133.
68. TIGERT, W.D. 1966. Present and potential malaria problem. *Mil. Med.* 131: 9 (suppl.).
69. CLYDE, D.F., MCCARTHY, V.C., MILLER, R.M. & HORNICK, R.B. 1976. Chloroquine resistant falciparum malaria from Jrian Jaya (Indonesian new Guinea). *J. Trop. Med. Hyg.* 99: 38—41.
70. ONORI, E. 1981. *Osservazioni personali.*
71. MIGASENA, S., BUNNAG, D. & HARINASUTA, T. 1980. A case of *P. falciparum* in Thailand apparently resistant to quinine. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 74: 243—244.
72. BETTINI, S., GRADONI, L., COCCHI, M. & TAMBURRO, A. 1978. Rice culture and *Anopheles labranchiae* in central Italy. WHO, Geneva. Unpublished document, WHO/MAL/78.897.
73. COLUZZI, A. 1980. Eradicazione della malaria in Italia e possibilità di ripresa della trasmissione. *G. Mal. Infett. Parassit.* 32: 477—478.
74. COLUZZI, M. & COLUZZI, A. 1980. Rischio di una ripresa della trasmissione della malattia in Calabria e problemi connessi al controllo dei vettori. *Riv. Parassitol.* 41: 117—125.
75. SABATINI, A., TERRANOVA, F., CIANCHI, R. & COLUZZI, M. 1981. Ricerche sull'anofelismo delle fiumare della costa ionica calabrese. *Parassitologia* 23: 245—249.
76. LEGER, N., PESSON, B., DEVAIRE, M. *et al.* 1981. Le paludisme des aéroports. *Med. Trop. (Marseille)* 41: 431—441.
77. GENTILINI, M. & DENIS, M. 1981. Le paludisme autochtone. *Méd. Mal. Inf.* 11: 358—362.
78. RODHAIN, F. & CHARMOT, G. 1982. Evaluation des risques de reprise de la transmission du paludisme en France. *Méd. Mal. Inf.* 12: 231—236.
79. DELEMARRE, B.J.M. & van der KAAY, H.J. 1979. Malaria tropica op natuurlijke wijze verkregen in Nederland. *Ned. Tidschr. Geneesk.* 123: 1981—1982.
80. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1978. Malaria Surveillance (Switzerland) *Wkly Epid. Rec.* 53: 337—338.
81. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1982. Synopsis of the world malaria situation, 1980. *Wkly. Epid. Rec.* 57: 209-213, 234, 235, 244-246, 251-253, 258-261, 268, 269.
82. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1978. Information on malaria risk for international travellers. *Wkly Epid. Rec.* 53: 181—196.

83. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1983. Vaccination certificate requirements for international travel and health advice to travellers. WHO, Geneva.
84. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1982. Malaria chemoprophylaxis. *Wkly Epid. Rec.* 57: 381-384.
85. WERNSDORFER, W.H. & KOUZNETSOV, R. 1980. Drug resistant malaria—occurrence, control and surveillance. *Bull. WHO* 58: 341-352.
86. CENTER FOR DISEASE CONTROL. 1982. *MMWR* 31: suppl.
87. RICKMAN, K.H., McNAMARA, J.V., FRISCHER, H., STOCKERT, I.A., CARSON, P.E. & POWELL, R.D. 1968. Effects of chloroquine, quinine and cycloguanil upon maturation of asexual erythrocytic forms of two strains of *P. falciparum* in vitro. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 17: 661-671.
88. RICKMAN, K.H., CAMPBELL, G.H., SAX, C.J. & MREMA, J.E. 1978. Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. An in vitro micro-technique. *Lancet* i: 22-23.
89. FAEHLMAN, M., ROMBO, L. & HEDMAN, P. 1981. Serum concentration of chloroquine in a patient with a late recrudescence of Kenya *Plasmodium falciparum* malaria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 75: 362-364.
90. HALL, A.P., DOBERSTYN, E.B., METTAPRAKONG, V. & SONKOM, P. 1975. Falciparum malaria cured by quinine followed by sulfadoxine-pyrimethamine. *Br. Med. J.* i: 15-17.
91. STRUBE, R.I. 1975. The search for new antimalarial drugs. *J. Trop. Med. Hyg.* 78: 171-185.
92. WORLD HEALTH INTERNATIONAL. 1981. *The development of Quing-hao-su and its derivatives as antimalarial drugs*. WHO, Geneva. Offset document TDR/CHEMAL-SWG(4)/(QHS) 81.3.
93. COSGRIFF, T.M., BOUDREAU, E.F., PAMPLIN, C.L., DOBERSTYN, E.B., DEJARDINS, R.E. & CANFIELD, C.J. 1982. Evaluation of the antimalarial activity of the phenanthremethanonl Halofantrine (WR 171,668). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31: 1075-1079.