

## RESISTÊNCIA DO *P. FALCIPARUM* ÀS 4-AMINOQUINOLEINAS: ESTUDO DE 3 «RAÇAS» PROVENIENTES DO ESTADO DE GOIÁS \*

P. F. Almeida Lopes \*\* J. R. da Silva † N. G. Pereira \*\*\* Walber Vieira \*\*\* e  
Walter Tavares \*\*\*

*Os autores induziram malária em pacientes portadores de neurosífilis com 3 diferentes "raças" do P. falciparum do Estado de Goiás. Todas foram resistentes à cloroquina em doses de 1.5 e 3g nas 48 horas. Uma delas apresentou resposta parcial ao tratamento com sulfato de quinino (20g em dez dias) e à combinação de sulfametoxipirazina e pirimetamina.*

### I — INTRODUÇÃO

A "Terminology of malaria and of malaria Eradication" (71) conceitua a resistência do plasmódio aos quimioterápicos como: — "a capacidade que têm, certas "raças", de se multiplicarem ou sobreviver em presença de concentrações de uma droga que normalmente destrói parasitos da mesma espécie ou prevê sua multiplicação". Em revisão feita pela mesma organização, em 1965 (72), incluiu-se naquela definição o conceito de absorção, variação de dose e limite de tolerância individual às drogas. Em nenhuma das oportunidades foi incluído na definição o grau de imunidade que o hospedeiro possa apresentar, embora chamem a atenção que a prova final da resistência seja feita em hospedeiro não imune. Por outro lado, em 1967, (73) estabeleceu-se uma gradação de resistência do *P. falciparum* às 4-aminoquinoleínas em 3 graus (Quadro I), além de traçar normas para detectar a resistência quer em malária de campo quer em infecção induzida.

É óbvio que tal preocupação da OMS expressa o grande perigo potencial que significa, para as campanhas de erradicação da malária, o aparecimento de "raças" de *P. falciparum* resistentes aos melhores esquizotomicidas sanguíneos até agora sintetizados, isto é, às 4-aminoquinoleínas. (3)

Não é escopo deste trabalho discutir a ação dos diversos quimioterápicos. Várias revisões do assunto vêm sendo feitas nos últimos anos (4, 16, 17, 43, 44, 45, 46, 56, 58, 59, 63,) WHO, 1966.

Não pretendemos também discutir as origens do fato, nem seu mecanismo, os quais vêm sendo estudados convenientemente, quer em malária humana quer em hospedeiros primatas e outros (39, 49, 50, 13, 14, 20, 35, 19, 38, 62, 1, 29, 30, 36, 51, 70, 60).

O fenômeno descrito pela primeira vez por Moore e Lanier (33), na Colômbia, foi seguido por inúmeras outras publicações nos últimos anos (65, 66, 52, 53, 54, 41, 11, 2, 47, 9, 10, 37, 32, 8, 6, 68, 55, 48, 34, 18, 25, 26, 28).

O presente trabalho refere-se a 3 "ra-

\* Trabalho da Cadeira de Clínica de Doenças Tropicais e Infecciosas da Faculdade de Medicina da U.F.R.J., realizado sob o patrocínio do Grant nº DA — HC — 19-67-0009, — da U.S. Armed Forces.

\*\* Prof. assistente.

† Prof. catedrático. *In memoriam*.

\*\*\* Auxiliares de ensino.

ças" de *P. falciparum* suspeitas de resistência à cloroquina, originárias de 3 diferentes áreas do Estado de Goiás. A palavra "raça" é usada desta forma, pois não podemos garantir se as amostras se constituem dentro do conceito exato da palavra.

## MATERIAL E MÉTODOS

Três "raças" de *P. falciparum* do Estado de Goiás foram colhidas de pacientes naturalmente infectados que apresentaram recaídas após doses de 1,5g de cloroquina em 48 hs. Convencionou-se denominar as "raças" usando-se a letra F seguida das iniciais da localidade onde foram obtidas e de um número correspondente às diferentes amostras de sangue que foram colhidas no local:

- F PO<sub>3</sub> = Porangatu amostra 3  
 F AR<sub>2</sub> = Araguaína amostra 2  
 F FO<sub>1</sub> = Formosa amostra 1

Para estudar o comportamento das "raças" criou-se um centro de malarioterapia, como cooperação da Cadeira de Clínica de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, do Hospital Pinel do Serviço Nacional de Doenças Mentais e do Instituto Nacional de Endemias Rurais do Departamento Nacional de Endemias Rurais do M.S.

Cada amostra foi inoculada por via I.M. em um grupo de neurosifilíticos. Os pacientes inoculados eram controlados clinicamente por uma equipe constituída por médicos, acadêmicos de medicina, enfermeiros e laboratoristas, 24 hs por dia. A contagem de parasitos, na fase aguda, foi feita em relação ao número de leucócitos por mm<sup>3</sup>, de 6/6 hs, em gota espessa, corada pelo Giemsa ou pelo método de Walker (67); fora daquela fase, pelo menos 1 vez ao dia por um período de 90 dias. O controle laboratorial foi feito através de: hemograma de 3/3 dias; prova de função hepática, proteinograma e imunofluorescência semanais; exame de urina de 3/3 dias. A malarioterapia foi sempre indicação de um psiquiatra do Hospital Pinel do Serviço Nacional de Doenças Mentais, responsável pela orientação terapêutica dos neurosifilíticos.

A medicação era dada sob vigilância médica e anotada qualquer manifestação de vômito ou diarreia.

A cloroquina (Difosfato) foi dada em dose inicial de 10mg/kg peso, dose teste. Conforme a evolução clínica e parasitológica, era seguida de um curso de 1,5g de cloroquina em 48 hs., sendo 10mg/kg peso na 1.<sup>a</sup> dose, 5mg/kg peso 6 hs., 24 hs. e 48 hs. após. A excreção da droga foi controlada pelo teste de Haskins (12).

Nas recaídas os pacientes eram tratados com drogas de grupos químicos diferentes até a cura total da infecção. Para provar resistência à dose de 3,0g de cloroquina no mesmo esquema horário anterior usaram-se pacientes diferentes. Com isto pretendemos afastar a imunidade parcial adquirida na primo infecção.

A rotina de malarização seguiu o esquema apresentado no quadro II, tendo-se o cuidado de colher e estocar sangue, para reindução, antes de qualquer medicação antimalárica, a fim de evitar seleção de espécimes mais resistentes. Apenas a amostra do doador original já havia sido tratada com cloroquina.

## COMENTÁRIOS

Conforme mostra o quadro III a "raça" F PO<sub>3</sub> foi inoculada em um total de 25 neurosifilíticos.

Os pacientes n.º 21 (Fig. A), n.º 3 (Fig. B), e n.º 24 (Fig. C), recaíram respectivamente após dose de 1,5g e 3,0g de cloroquina em 48 hs. O primeiro foi tratado com pirimetamina 300mg mais sulfotomidina 2,5g em 5 dias; a temperatura normalizou-se no 6.º dia após início da terapêutica; os trofozoítos negativaram no 5.º dia e os gametócitos, que subiram inicialmente, no 28.º dia. O paciente n.º 24 (Fig. C) recebeu um segundo tratamento com sulfato de quinino, 2g/dia, durante 10 dias além de um curso de 3g diário de cloranfenicol, durante 6 dias, devido a uma estafilococcia; a temperatura normalizou-se no 2.º dia, os trofozoítos desapareceram no 4.º dia e os gametócitos no 5.º dia. O paciente n.º 3 (Fig. B) foi também tratado com 1,5g de cloroquina, pois a "raça" já estava em sua 6.<sup>a</sup> passagem de homem a homem; o comportamento da "raça" em relação à dose foi bastante diferente. Houve um aumento bastante acentuado da parasitemia, após 1,5g de cloroquina, acom-

panhada de quadro clínico severo. O paciente necessitou de 20g de quinino para a cura radical, sendo parte da dose (1g) dada por via intramuscular e venosa.

Os pacientes n.ºs 14 e 30 receberam como 1.º tratamento sulfato de quinino na dose de 20g em 10 dias com resposta clínica e laboratorial satisfatórias.

No paciente n.º 15 a "raça" foi resistente a uma dose de 250mg de pirimetamina em 5 dias e curou-se com sulfato de quinino como segundo tratamento. (42).

Os pacientes n.º 28, 31 e 35 foram tratados com sulfotomidina 1g em 3 dias (21, 22). Os dois primeiros responderam clínica e laboratorialmente. O último só atingiu a cura após 4g de sulfato de quinino.

Os pacientes 13 e 18 receberam o mesmo esquema de sulfotomidina + pirimetamina dado ao paciente n.º 21 e tiveram resposta semelhante.

Os pacientes n.ºs 8, 19, 25, 26, 29 e 38 tiveram como primeiro tratamento a associação de sulfotomidina 1g mais pirimetamina 50mg/dia em 3 dias. A resposta clínica variou de 4 a 8 dias; os trofozoitos desapareceram em 3 a 6 dias e os gametócitos de 21 a 32 dias.

Os pacientes 39, 41, 42, 44 e 48 foram tratados com sulfametoxipirazina 1g + pirimetamina 50mg por dia, durante três dias. A resposta clínica variou entre 4 e 5 dias; os trofozoitos desapareceram entre 3 a 5 dias e os gametócitos entre 24 e 41 dias.

Os pacientes n.ºs 36 e 37 foram tratados com cloroquina 900mg, dose única, seguida de sulfotomidina 1g por dia durante 3 dias, com resultados satisfatórios.

A "raça" Araguaína 2 (F AR<sub>2</sub>) (Quadro IV) foi inoculada em 13 neurosifilíticos.

O paciente n.º 34 (Fig. D) apresentou recaída após 1,5g de cloroquina em 48 hs., 20g de sulfato de quinino em 10 dias e curou-se com sulfotomidina 3g + pirimetamina 150mg em 3 dias, como terceiro tratamento.

Os pacientes n.ºs 20, 40 e 56 foram tratados inicialmente com sulfotomidina 3g

mais pirimetamina 150mg em 3 dias sem recaídas. Os trofozoitos desapareceram entre 2 e 4 dias e os gametócitos entre 17 e 20 dias.

Os pacientes n.ºs 6, 32, 45, 49, 50, 54, e 55 foram tratados inicialmente com sulfametoxipirazina 3g mais pirimetamina 150mg em 3 dias. O paciente 54 (Fig. E) recaiu, sendo tratado com sulfato de quinino na dose de 20g em 10 dias. Os restantes recuperaram clinicamente entre 3 a 7 dias. Os trofozoitos desapareceram entre 3 a 4 dias e os gametócitos entre 11 e 32 dias.

O paciente n.º 33 desenvolveu malária quiescente (61, 69 31, 40, 27).

A "raça" Formosa 1 (F FO<sub>1</sub>) foi inoculada em 3 neurosifilíticos n.ºs 47, 51 e 53.

O paciente 47 após uma fase aguda passou à forma quiescente.

O paciente 51 foi tratado com Orisul 1g intramuscular mais pirimetamina 50mg por dia durante 3 dias. A resposta clínica e parasitária não diferiu em muito das previamente citadas.

O paciente n.º 53 recaiu após 1,5g de cloroquina em 3 dias, sendo curado com sulfametoxipirazina 3g mais pirimetamina 150mg em 3 dias.

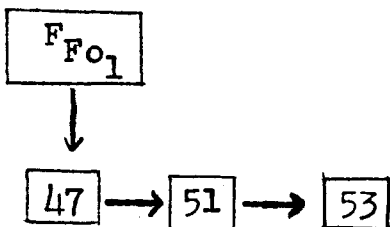
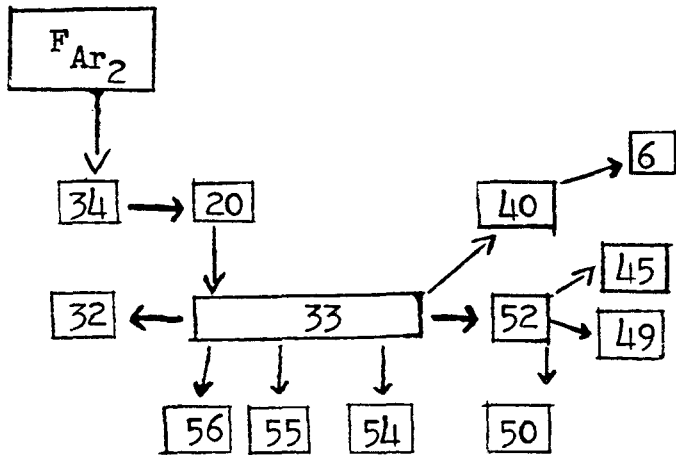
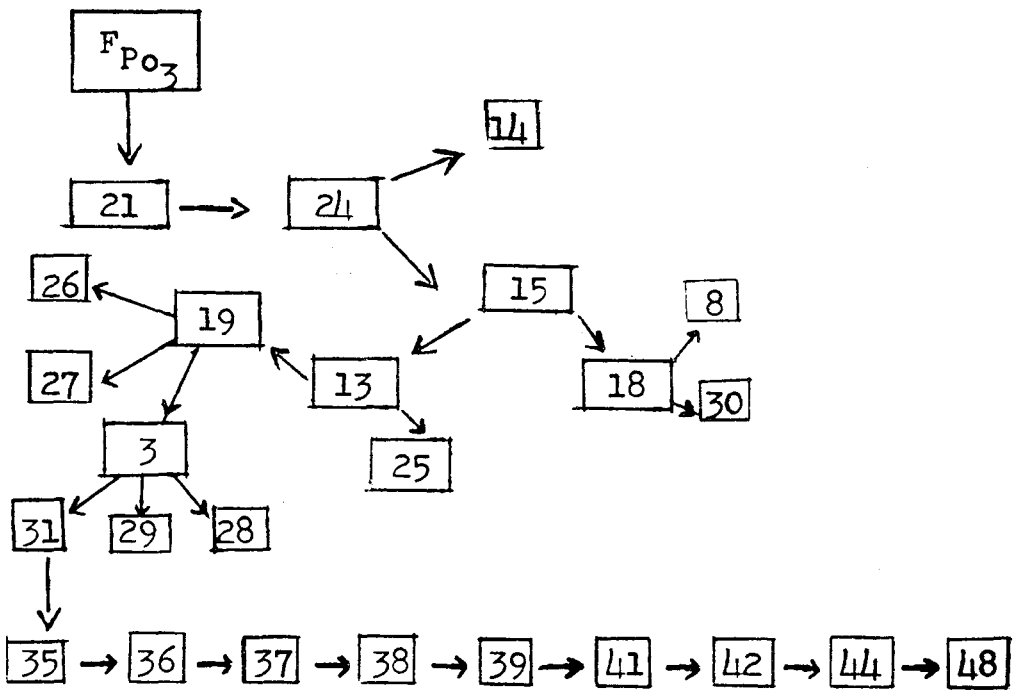
## DISCUSSÃO

No estabelecido pela OMS a resistência deve ser classificada em 3 graus: RI, RII e RIII.

A "raça" Porangatu 3 foi inoculada inicialmente no paciente n.º 21, branco, sem nenhuma história anterior de malária quer induzida quer natural. Sua evolução (Fig. A) parece corresponder ao grau RI, pois houve subpatência de 6 dias após 1,5g de cloroquina. A subinoculação no paciente n.º 24, negro, (Fig. C) também não diferiu, havendo subpatência de aproximadamente 12 dias, após 3,0g da mesma droga. Já no paciente 3, também branco e sem história de malária, o comportamento foi bastante diverso do anterior; ao contrário dos precedentes, houve ascensão da parasitemia 48h após 1,5g de cloroquina, tal como seria esperado para uma classificação em RIII, obrigando a terapêutica parente-

QUADRO II

ROTINA DE INDUÇÃO EM NEUROSIFILÍTICOS



QUADRO 1

Resposta	Símbolo Recomendado	Evidências
Sensível	S	Desaparecimento das formas assexuadas dentro de 7 dias após início do tratamento, sem recaídas posteriores.
Resistência	RI	Desaparecimento das formas assexuadas como no sensível, seguida de recaída.
	RII	Redução marcada da Parasitemia assexuada mas sem desaparecimento dela.
	RIII	Sem redução marcada da parasitemia assexuada.

ral com bicloridrato de quinino. Note-se (Quadro II) que os doadores antecedentes, com exceção do 21 e 24, não receberam cloroquina, o sangue para reinoculação foi retirado antes de qualquer terapêutica e a "raça" estava na sexta passagem homem a homem (21 → 24 → 15 → 13 → 19 → 6 → ). Não houve, portanto, queda da resistência, nem seleção de espécimes. O teste de Haskins era positivo por ocasião da recaída nos pacientes 21 e 24. Pelo exposto parece-nos claro que a "raça" é resistente à cloroquina, pois doses maiores que as 3g citadas, já atingem graus de toxidez. A diminuição do total da dose diária e o aumento do número de dias, embora pareça alternativa válida, nos parece ser de menor aplicação prática. Além disso, por histórias de pacientes da mesma área, o uso prolongado de cloroquina, quer como profilático quer como terapêutico, não surtiu efeitos.

Provada a resistência à cloroquina e a sensibilidade ao sulfato de quinino e à associação sulfa-pirimetamina, como segundo curso terapêutico, o paciente 15 foi tratado inicialmente com pirimetamina em dose de 250mg em 5 dias. Não houve resposta satisfatória, sendo portanto resistente à droga isoladamente.

Nos pacientes n.º 28, 31 e 35 foi experimentado como primeira terapêutica a sulfotomidina 1g diária, por 3 dias. Houve uma falha no paciente n.º 35, que necessi-

tou de 4g de sulfato de quinino para a cura. Vemos nisto um certo grau de tolerância à droga (22).

Os pacientes 13 e 18 provaram que a "raça" era sensível à associação de sulfotomidina 2,5g mais pirimetamina 250mg em 5 dias. Os pacientes n.ºs 8, 19, 25, 26, 27, 29 e 38 responderam à mesma associação em um esquema de 3 dias. Os pacientes n.ºs 39, 41, 42, 44 e 48 foram tratados neste último esquema, substituindo-se a sulfotomidina pela sulfametoxipirazina. A resposta não diferiu em muito daquela da associação anterior. Note-se que, em ambos os grupos, a resposta clínica se fez em média de 5 dias, bem como a negatização dos trofozoítos. Para os gametócitos, em contraste ao tratamento com quinino, houve uma permanência em média de 28 a 30 dias. Nestes grupos houve sempre um aumento inicial da densidade de gametócitos logo após terapêutica. Com o exposto acima temos que admitir a potencialização entre sulfa e pirimetamina, fato já constatado por vários autores (15, 24, 5).

Embora conhecendo a ausência de potencialização entre sulfa e cloroquina, a somação de seus efeitos esquizonticidas foi testada nos pacientes n.ºs 36 e 37, com um resultado aceitável.

A "raça" Araguaína 2 apresentou um comportamento bastante surpreendente quando inoculada.

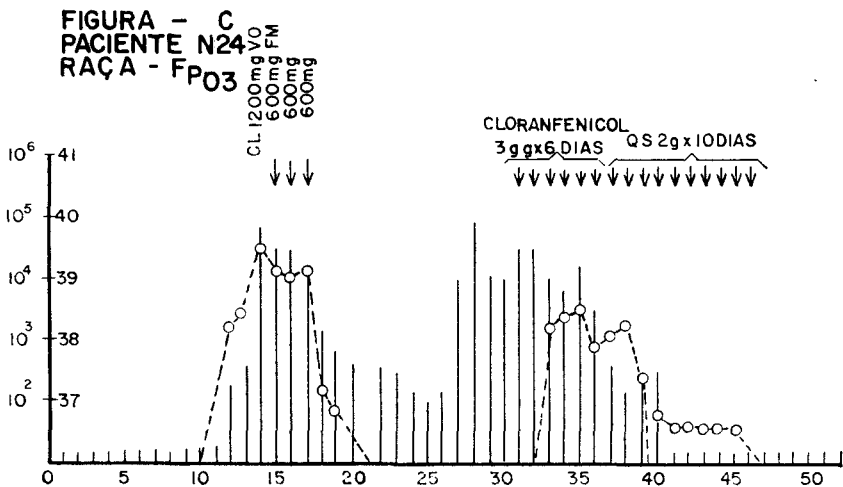
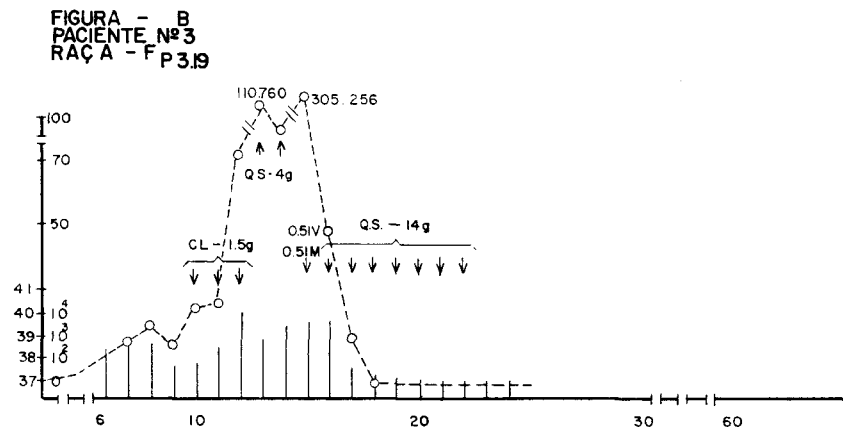
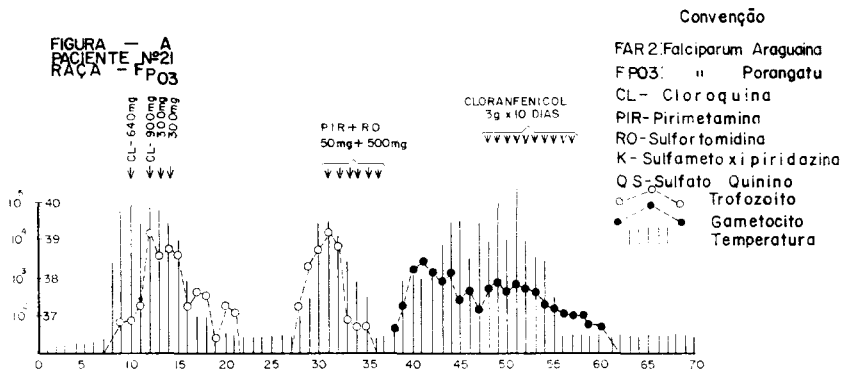


FIGURA - D  
PACIENTE Nº34  
RAÇA - FAR2

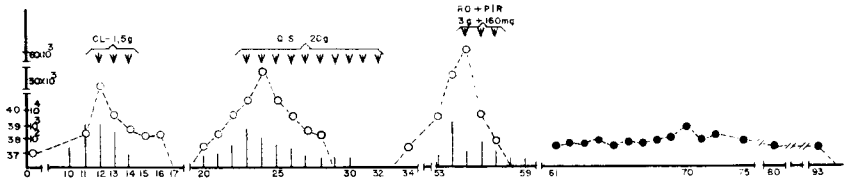
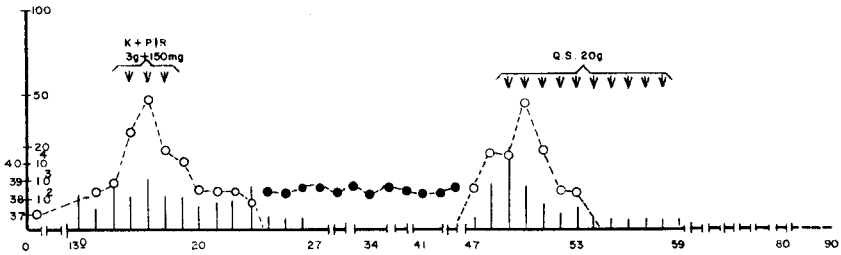


FIGURA - E  
PACIENTE Nº54  
RAÇA - FAR233



QUADRO IV = P. FALCIPARUM - Araguaiana 2 - "RAÇA" RESISTENTE À CLOROQUINA F<sub>Ar2</sub>

"RAÇA"	Nº NEURO SIFILÍTI CO	CÔR PÊSO	E S Q U E M A   D E   T R A T A M E N T O						
			CLOROQUINA	Q. S.	PIR + RO	PIR + K	RESPOSTA CLÍNICA	RESPOSTA PARASITEMIA - DIAS	
			1.500mg 3 dias	2g x 10	50mg + 1g	50mg + 3g		Pft	Pfg
F <sub>Ar2</sub>	34	Preta 60 kg	R	R ?	S		3	3	31
F <sub>Ar2.34</sub>	20	Branca 65 kg	-	-	S	-	4	4	18
F <sub>Ar2.20</sub>	33 *	Preta 60 kg	-	-	-	-	-	-	-
F <sub>Ar2.33</sub>	32	Branca 58 kg	-	-	-	S	5	4	28
	40	Branca 61 kg	-	-	S	-	3	2	17
	52	Preta 77 kg	-	-	-	S	4	3	32
	54	Branca 73 kg	-	S	-	R ?	5	4	0
	55	Preta 51 kg	-	-	-	S	7	4	19
	56	Preta 58 kg	-	-	S	-	3	3	20
F <sub>Ar2.40</sub>	6	Preta 64 kg	-	-	-	S	4	3	11
F <sub>Ar2.52</sub>	45	Preta 64 kg	-	-	-	S	5	4	17
	49	Preta 61 kg	-	-	-	S	5	3	29
	50	Preta 61 kg	-	-	-	S	4	4	26

33 \* MALÁRIA QUIESCENTE

R ? recaiu após 20g de sulfato quinino.



QUADRO III P. FALCIPARUM - PORANGATU 3 - "RAÇA" RESISTENTE À CLOROQUINA (F<sub>P</sub>O<sub>3</sub>)

" RAÇA "	Nº NEURO SIFILÍ- TICO	E S Q U E M A S            D E            T R A T A M E N T O								RESPOSTA CLÍNICA DIAS	RESPOSTA PARASITÁ- DIAS		
		CLOROQUINA		Q. S.	PIR + RO	PIR	PIR + K	RO	CL + RO		DIAS	Pft	E
		1.5g 3 dias	3.0g 3 dias	2.0g x 10 dias	150mg + 3g 3 dias	250 mg dias	50mg + 3g dias	1g x 3 dias	900mg/d + 1g x 3 dias				
F <sub>P</sub> O <sub>3</sub>	21	R	-	-	S*	-	-	-	-	6	5		
F <sub>P</sub> O <sub>3.21</sub>	24	-	R	S	-	-	-	-	-	2	4		
F <sub>P</sub> O <sub>3.24</sub>	14	-	-	S	-	-	-	-	-	3	3		
	15	-	-	S 2º	-	R 1º	-	-	-	2	7		
F <sub>P</sub> O <sub>3.15</sub>	13	-	-	-	S 2*	-	-	-	-	5	4		
	18	-	-	-	S 3*	-	-	-	-	4	4		
F <sub>P</sub> O <sub>3.13</sub>	19	-	-	-	S	-	-	-	-	5	6		
	25	-	-	-	S	-	-	-	-	8	5		
F <sub>P</sub> O <sub>3.18</sub>	8	-	-	-	S	-	-	-	-	5	4		
	30	-	-	S	-	-	-	-	-	2	2		
F <sub>P</sub> O <sub>3.19</sub>	26	-	-	-	S	-	-	-	-	4	4		
	27	-	-	-	S	-	-	-	-	5	6		
F <sub>P</sub> O <sub>3.3</sub>	3	R	-	S	-	-	-	-	-	2	5		
	28	-	-	-	-	-	-	S	-	6	7		
	29	-	-	-	S	-	-	-	-	4	3		
F <sub>P</sub> O <sub>3.31</sub>	31	-	-	-	-	-	-	S	-	4	5		
	35	-	-	S 4*	-	-	-	R ?	-	10	11		
F <sub>P</sub> O <sub>3.35</sub>	36	-	-	-	-	-	-	S	-	2	3		
F <sub>P</sub> O <sub>3.36</sub>	37	-	-	-	-	-	-	S	-	6	4		
F <sub>P</sub> O <sub>3.37</sub>	38	-	-	-	S	-	-	-	-	6	4		
F <sub>P</sub> O <sub>3.38</sub>	39	-	-	-	-	-	S	-	-	5	4		
F <sub>P</sub> O <sub>3.39</sub>	41	-	-	-	-	-	S	-	-	4	3		
F <sub>P</sub> O <sub>3.41</sub>	42	-	-	-	-	-	S	-	-	5	4		
F <sub>P</sub> O <sub>3.42</sub>	44	-	-	-	-	-	S	-	-	5	3.		
F <sub>P</sub> O <sub>3.44</sub>	48	-	-	-	-	-	S	-	-	5	5		

Q.S. = Sulfato de quinino  
R.O. = Sulfortomidina  
PIR = Pirimetamina  
K = Sulfametoxipirazina

F<sub>P</sub>O<sub>3</sub> = P. falciparum - Porangatu 3

S\* = Pyr 300mg + RO - 3g durante 6 dias  
S 2\*, S 3\* = Pyr 250mg + RO - 2,5g durante 5 dias  
R? e 4\* = necessitou 4g de sulfato de quinino  
R 1º = 1º tratamento  
S 2º = 2º tratamento.

O paciente 34 (Fig. D) recaiu após 1,5g de cloroquina e após 20g de sulfato de quinino, tendo sido curado com associação de sulfortomidina-pirimetamina (3g + 150mg em 3 dias). A mesma sensibilidade à associação foi notada nos pacientes n.º 20, 40 e 56 como primeira terapêutica. Nos restantes n.ºs 6, 32, 45, 49, 50, 52, 54 e 55 substituiu-se a sulfortomidina pela sulfametoxipirazina. Neste grupo houve uma falha terapêutica no paciente n.º 54 (Fig. E), que necessitou um segundo tratamento com sulfato de quinino. Já o paciente 33 desenvolveu malária quiescente. O fato aqui relatado, de uma "raça" diferir seu comportamento quando difere o hospedeiro, clama por uma explicação que foge aos nossos conhecimentos atuais, mas que provavelmente está ligado à imunidade do hospedeiro (7).

Preferimos considerá-la resistente à cloroquina e parcialmente sensível ao sulfato de quinino e à associação sulfametoxipirazina-pirimetamina. Por este mesmo motivo interrompemos as experimentações com a "raça".

A "raça" Formosa 1, foi resistente a 1,5g de cloroquina, sensível ao Orisul + pirimetamina e resultou também em um caso quiescente.

## CONCLUSÃO

A "raça" Porangatu 3 é definitivamente resistente à cloroquina em dose de 1,5g a 3,0g em 48 hs. Conforme o hospedeiro poderia ser classificada em resistência grau I ou III. É resistente à pirimetamina isolada, parcialmente sensível à sulfortomidina e sensível à associação de sulfametoxipirimetamina.

A "raça" Araguaína 2 é resistente à cloroquina em dose de 1,5g. É também suspeita de resistência ao sulfato de quinino em dose de 20g em 10 dias e à associação de sulfametoxipirazina + pirimetamina em dose de 3g + 150mg em 3 dias.

A "raça" Formosa I é resistente à cloroquina 1,5g e sensível ao Orisul 1g + pirimetamina 50mg por dia durante 3 dias.

O grau de imunidade do paciente deve ser de grande importância para a classificação do grau de resistência às drogas.

A persistência no uso da cloroquina no tratamento da malária por *P. falciparum* pode levar a consequências indesejáveis. Seu uso como clonoprofilático deve levar à seleção de espécimes resistentes.

A associação sulfametoxipirazina + pirimetamina tem ação relativamente lenta; há inicialmente aumento de gametócitos, ao contrário do sulfato de quinino que elimina o gametócito ou impede sua produção mais precocemente.

## AGRADECIMENTOS

Queremos agradecer a inestimável colaboração do Dr. Amin Curi, diretor do Hospital Pinel, Prof. José Alves Garcia e Dr. Deusdedit de Araújo, responsáveis pela orientação terapêutica dos neurosifilíticos. Não poderíamos deixar também de agradecer a grande colaboração que recebemos do Prof. Manoel Ferreira e dos Drs. Mário Ferreira, Djalma Almeida e O. Garcia Sandia que nos facilitaram a obtenção das "raças". Os agradecimentos são também extensivos a todo o pessoal de enfermagem e laboratório.

## SUMMARY

*Three different strains of P. falciparum from the State of Goiás were induced in neurosyphilitic in-patients. All of them were resistant to chloroquine 1,5g and 3g em 48 h. One of them was also suspected to be resistant to quinine sulphate 20g in a ten day schedule and to combined sulfametoxipirazine plus pyrimethamine.*

## BIBLIOGRAFIA

- 1) BENAIZET, F. 1965 — Colloque International Sur Le Plasmodium Berghei. Ann. Soc. Belg. Trop., V. 45, 455.
- 2) BOX, E. D.; BOX, Q. T. and YOUNG, M. D. 1963 — Chloroquine resistant Plasmodium falciparum from Brazil. Am. J. Trop. Med. & Hyg. 12: 300-304.
- 3) BRUCE-CHWATT, L. J. 1963 — Drug resistance in malaria parasites and the importance of this problem in malaria eradication WHO-MAL. 417, pg. 63.
- 4) BRUCE-CHWATT, L. J. 1965 — Malaria research for malaria eradication. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., V. 59, n.º 2, 105.
- 5) CHIN, W., CONTACOS, P. G., COATNEY, G. R., KING, H. K. 1966 — The evaluation of sulfenamides, alone or in combination with pyrimethamine, in the treatment of multi-resistant falciparum malaria. Am. J. Trop. Med. Hyg., V. 15, n.º 6, Part 1.
- 6) CONTACOS, P. G., LUNN, J. S., COATNEY, G. R., 1963 — Drug resistant falciparum malaria from Cambodia and Malaya. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., V. 57, n.º 6, 417-424.
- 7) COX, H. W., 1964 — Comments on auto immunity in malaria. Am. J. Trop. Med. & Hyg., 13 (part 2) 225-227.
- 8) EYLES, D. E., HOO, C. C. WARREN, M. & SANDOSHAN, A. A., 1963 — P. falciparum resistant to chloroquine in Cambodia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 6: 840-45.
- 9) FERREIRA, M. and ALMEIDA, D. 1963 — Geographical distribution of the strain of P. falciparum resistant to chloroquine. WHO/MAL/417, pg. 67.
- 10) FERREIRA, M. O. & ALMEIDA, D., 1965 — Comportamento do P. falciparum na Amazônia Brasileira. Trabalho apresentado à 1.ª Assembléia Médica de Língua Portuguesa, realizada de 29 de agosto à 4 de setembro de 1965. Rio de Janeiro.
- 11) GALVÃO, A. L., GUSMÃO, H. H., JAREZ, E., SCHMID, A. W., RICCI, A. & MELLO, J. V., 1961/62. — Malária no Amapá. Observações sobre o comportamento anômalo do P. falciparum em face ao tratamento pelas 4-aminoquinoleínas. Arch. Fac. Hyg. S. Pública da Universidade de S. Paulo V. 15-16: 201-244.
- 12) HASKINS, W. T., 1958 — A simple qualitative test for chloroquine in urine. Am. J. Trop. Med. & Hyg., 7: 199-200.
- 13) HAWKING, F. & GAMMAGE, K. 1962 — Chloroquine resistance produced in P. berghei. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., V. 56, 263.
- 14) HAWKING, F. 1966 — Chloroquine resistance in P. berghei. Am. J. Trop. Med. Hyg., V. 15, 287.
- 15) HERRERO, J. 1966 — Long action sulfenamides, alone or with pyrimethamine in malaria. III Congr. Internat. Pharmacol. S. Paulo, Brazil, 24-30 July.
- 16) HILL, J. 1963 — Chemotherapy of malaria. In Schnitzer, R. J. & Hawking, F. (Edited by) Experimental chemotherapy. V. I, New York: Academic Press 513.
- 17) HILL, J. 1966 — Chemotherapy of malaria. In ibid., vol. IV, appendix 448.
- 18) HUNTER, G. W., III, BATEY, R. L., MELENEY, H. E. & SANDERS, E. 1968 — Apparent chloroquine resistant falciparum malaria from coastal Brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg., v. 17 n.º 3, 364-8.
- 19) JACOBS, R. L., 1965 — Selection of strains of P. berghei resistant to quinine, chloroquine, and pyrimethamine. Parasit., v. 51, 481.
- 20) KOLLERT, W. 1963 — Experimentelle studien zur resistenz von Malaria-Parasiten gegen chloroquin. In Medizin und Chemi., v. 7 Leverkusen: Bayer A. G. 393.
- 21) LAING, A. B. G. 1964 — Antimalarial effect of sulphorthodimethoxine (Fanasil). Brit. Med. J. 2, 1439-1440.
- 22) LAING, A. B. G. 1965 a — Sporogony in falciparum apparently unaffected by sulphorthomidine (Fanasil). Trans. apresentado a II semana de Debates Roy Soc. Trop. Med. Hyg. 59: 357-8.
- 23) LAING, A. B. G. 1965 b — Treatment of acute falciparum malaria with sulphorthodimethoxine (Fanasil) Brit. Med. J. 1, 905-907.
- 24) LAING, A. B. G. 1966 — The treatment of acute malaria with sulphorthomidine and a combination of sulphorthomidine and pyrimethamine, Bull WHO 34: 208-311.
- 25) LOPES, P. F. A. 1968 a — Resistência do P. falciparum aos quimioterápicos no Brasil. Conferência apresentada ao IV Congresso da Soc. Bras. Med. Trop. — Recife, fev. de 1968.
- 26) LOPES, P. F. A. & SILVA, A. R., 1968 b — Novo foco de resistência do P. falciparum a cloroquina; trabalho apresentado a II semana de debates científicos. Guanabara, set. 1968.
- 27) LOPES, P. F. A., TOSTA, C. E. 1968 c — Malária quiescente. Aplicação do método de imunofluorescência em dois casos. Idem.
- 28) LOPES, P. F. A. & SILVA, J. R. 1968 d — Chloroquine resistant P. falciparum in South America. Proc. 8th Int. Cong. Trop. Med. Mal., 1394.

- 29) MACOMBER, P. B., O'BRIEN, R. L. & HAHN, F. E. 1966 — Chloroquine: physiological basis of drug resistance in *P. berghei*. Science Washington, v. 152, 1374.
- 30) MACOMBER, P. B., SPRINZ H. & TAUSIMIS, A. J. 1967 — Morphological effects of chloroquine on *Plasmodium berghei* in mice. Nature, London, 1967 May 27, v. 214, 937-9.
- 31) MAHMOOD, A. 1966 — Prolonged latent period with *P. falciparum* infection (correspondence). Brit. Med. J., Feb. 26 544-5.
- 32) MONTGOMERY, R. & EYLER, D. E. 1963 — Chloroquine resistant *falciparum* in Malaya. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., vol. 57, n.º 409-416.
- 33) MOORE, D. V. and LANIER, J. E. 1961 — Observation on two *P. falciparum* infections with an abnormal response to chloroquine. Am. J. Trop. Med. & Hyg. 10: 5-9.
- 34) NEVES, J., MAURA H. B., ARAÚJO, F. G. de, COLEN, S. E. V. & LOIOLA, J. C. 1968 — Resistência do *P. falciparum* à cloroquina na Região do Paracatu no Estado de Minas Gerais. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 10: 28-35.
- 35) PETERS, W. 1963 — Proceedings of the Seventh International Congresses on Tropical Medicina and Malaria, Rio de Janeiro, September 1963, v. 5, Rio de Janeiro, 21.
- 36) PETERS, W. 1964 — Pigment formation and nuclear division in chloroquine resistant malaria parasites (*P. berghei*, Vincke, Lips, 1948). Nature, London, v. 203, 1290.
- 37) POWELL R. D., BREWER, G. L., ALVING, A. S. 1963 — Studies on a Strain of Chloroquine resistant *P. falciparum* from Vietnam. WHO/MAL/417, pg. 72.
- 38) RABINOVITCH, S. A. 1965 — The evaluation of the drug Haloquine (cicloquine) in laboratory experiments. II The possibility of the emergence of resistance in malaria parasites to haloquine. Medskaya Parasit., v. 34, 91.
- 39) RAMAKRISHMAN, S. P., PRAKASH, S. & CHOUDRURY D. S. 1957 — Studies on *P. berghei* Vincke and Lips, 1948. XXIV — Selection of a chloroquine resistant strain. Indian J. Malariol., v. 11, 213.
- 40) ROBINSON, G. L. 1966 — Prolonged latent period with *P. falciparum* infections (correspondence). Brit. Med. Apr. 16, 982.
- 41) RODRIGUES, D. C. 1961 — Casos de malária por *Plasmodium falciparum* resistentes ao tratamento pela cloroquina. Arq. Hig. Saúde Pública, 26: 231-235.
- 42) ROLLO, I. M. 1952 — Daraprim resistance in experimental malaria infections. Nature 170: 415.
- 43) ROLLO, I. M. 1963 — Resistance to antimalarials and its relations to their mode of action. WHO/MAL/417, pg. 74.
- 44) ROLLO, I. M. 1964 — Biochemistry and Physiology of Protozoa. Vol. 3, Academic Press. Inc. New York.
- 45) ROLLO, I. M. 1965 — In the Pharmacological Basis of Therapeutics, 3rd edition, Macmillan New York.
- 46) ROLLO, I. M. 1966 — The mode of action of antimalarials. III Cong. Internat. Pharmacol. São Paulo, 24-30 July, Brazil.
- 47) SANDOSHAM, D. E., EYLES, S. R. MONTGOMERY, 1963 — Drug resistance in *P. falciparum* malaria in South-East Asia. Med. J. Malaya, vol. XVIII n.º 3, March, 1964.
- 48) SÃO THIAGO, P. T. 1966 — Resposta terapêutica do *P. falciparum* a diferentes esquemas de tratamento (Nota prévia). Apresentado ao XVI Congresso Brasileiro de Higiene, 20 a 26 de novembro, Curitiba.
- 49) SAUTET, J., ALDIGHERI, J. ALDIGHERI, R., ARNAUD, G. AUSSEIL, M., RAMPAL, C. & CASTELLI, C. 1959 — Étude sur la production expérimentale de la résistance a divers produits antimalariques d'une souche de *P. berghei*. Bull. Soc. Path. Exot., v. 52, 331.
- 50) SERGENT, Ed. & PONCET A. 1959 — Des variations expérimentales de la virulence de *P. berghei*. Exaltation — attenuations — mithridatisme. Arch. Inst. Pasteur Alerg., v. 37, 227.
- 51) SOUNEBOM, T. M. 1965 — Proceedings of the Second International Conference on Protozoology. London, July/August, 1965, 67.
- 52) SILVA, J. R., ALMEIDA LOPES P. F. 1961 — Resistência do *P. falciparum* à ação da cloroquina. "O Hospital", 60: 5, 581-594.
- 53) SILVA, J. R. e ALMEIDA LOPES, P. F. 1964 — Chloroquine resistance in *P. falciparum* in Brazil. Rev. Bras. Mal. Trop., n.º 3 vol. XVI, July-sept.
- 54) SILVA, J. R. e ALMEIDA LOPES, P. F. 1966 — Resistência do *P. falciparum* aos antimaláricos de síntese. "O Hospital", 69: 5, 91-103.
- 55) SCHMIDT, S. 1965 — Fases evolutivas da luta antipalúdica na Região Amazônica. Primeiros trabalhos realizados no campo sobre a resistência do *P. falciparum* às drogas cloroquinadas. Rev. Bras. Mal. D. Trop., vol. XVII, n.º 213, abril-setembro.
- 56) SCHNITZER, R. J. — 1963 a — Int. Rev. Trop. Med., vol. 2, 239.
- 57) SCHNITZER, R. J. — 1963 b — Drug resistance in chemotherapy. In Schnitzer, R. J. & Hawking, F. (Edited by) Experimental chemotherapy. Vol. I, New York. Academic Press 81.
- 58) SCHNITZER, R. J. 1966 a — Drug resistance in chemotherapy. In Ibid. Vol. IV, appendix 390.

- 59) SCHNITZER, R. J. 1966 b — Trans. N. Y. Acad. Sci. v. 28, 923.
- 60) SCHUELER, F. W. and W. F. CANTRELL, 1964 — Antagonism of the antimalarial action of chloroquine by ferrihemate and an hypothesis for the mechanism of chloroquine resistance. J. Pharm. Exp. Ther., vol. 143, n.º 3, March.
- 61) SHUTE, P. G. 1960 — Quiescent malaria parasites (correspondence). Brit. Med. J. Ma. 5, 730-731.
- 62) THOMPSON, P. E., BAYLES A., OLSZEWSKI, B. & WAITZ, J. A. 1965 — Quinine resistant Plasmodium berghei in mice. Science, Washington, v. 148, 1240 (Trop. Dis. Bull., 1966 v. 63, 20).
- 63) THOMPSON P. E. 1967 — Parasite Chemotherapy. Ann. Rev. Pharmacol. v. 7, 77.
- 64) VERDRAGER, J. 1964 — Observations on the longevity of *P. falciparum* with special reference to findings in Mauritius. Bull. WHO 31 (5): 747-51.
- 65) YOUNG, M. D. and MOORE, D. V. 1961 — Chloroquine resistance in *P. falciparum*. Am. J. Trop. Med. and Hyg. 10: 317-320.
- 66) YOUNG, M. D., CANTACOS, P. G., STITCHER, J. D. and MILLER J. W. 1963 — Drug resistance in Plasmodium falciparum from Thailand. Am. J. Trop. Med. and Hyg. n.º 3, 305-314.
- 67) WALKER, A. J. 1960 — Manuel del Diag. Micro. Mal. WHO, n.º 46, pg. 50, March.
- 68) WALKER, A. J. 1964 — Comunicação à 4.ª reunião dos diretores dos Serviços Nacionais de Erradicação da Malária da América do Sul.
- 69) WALKERS, J. 1960 — Quiescent malarial parasites (correspondence). Brit. Med. J. Apr. 16, 1206-7.
- 70) WARHURST D. C. & HACKLEY, D. J. — Mode of action of chloroquine on *P. berghei* and *P. cynomolgi*. Nature, London, 1967, May 27, vol. 214, 935-6.
- 71) WHO, 1963 — Terminology of malaria and of malaria eradication, pg. 166.
- 72) WHO, 1965 — Resistance of malaria parasites to drugs. Techn. Rep. Ser. 296, p. 29.
- 73) WHO 1967 — Chemotherapy of malaria. Techn. Rep. Ser. 375, p. 42.