



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI
PARTHENOPE

PLASMODI

Corso di Igiene – Prof.ssa Valeria Di Onofrio

A CURA DI

REGA LEANDRO MAT. 0123002768

GRAZIANO MAURIZIO MAT. 0123002798

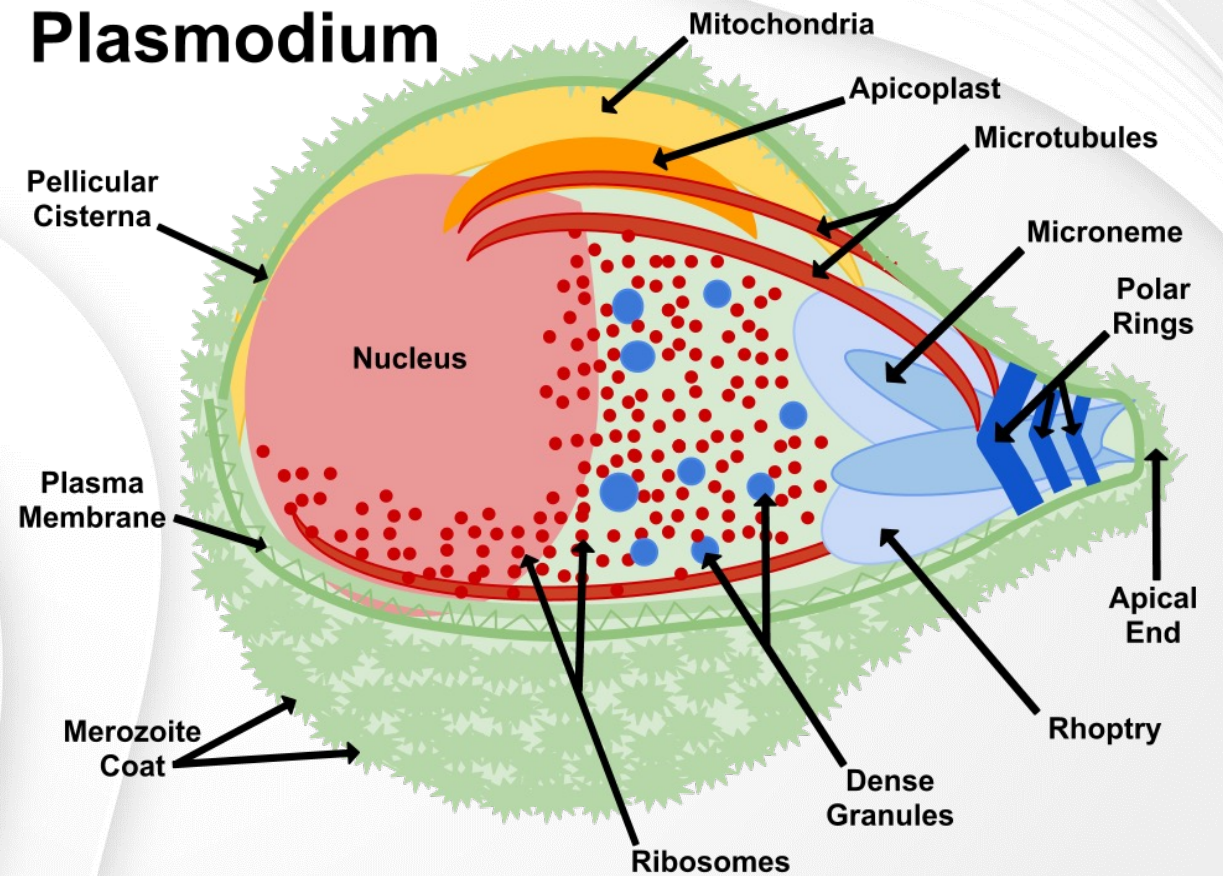
CITARELLA ANDREA MAT. 0123002543

VARONE GENNARO MAT. 0123002907

FARINA ROSSELLA MAT. 0123002747

CHE COS'È UN PLASMODIO

Un plasmodio è un parassita delle cellule del sangue dei suoi organismi ospiti. Fa parte del genere di sporozoi parassiti dei globuli rossi della famiglia *Plasmodidae*, sottordine *Haemosporina* e della sottoclasse dei *Coccidia*. Il plasmodio vive nell'intestino o negli apparati riproduttivi delle zanzare anofeli, in una sorta di simbiosi. Attraverso la puntura della zanzara Anofele femmina, il quale ha la saliva infetta di plasmodi, penetra nei globuli rossi dell'uomo e provoca la malaria.





COSA È LA MALARIA

La Malaria (detta anche paludismo) è una malattia infettiva del genere parassitosi, provocata da parassiti protozoi del genere *Plasmodium*. Fra le varie specie di *Plasmodium*, cinque sono le più diffuse:

- *Plasmodium falciparum*
- *Plasmodium vivax*
- *Plasmodium ovale*
- *Plasmodium knowlesi*
- *Plasmodium malariae*

La più pericolosa e diffusa è il *Plasmodium falciparum*, con il più alto tasso di mortalità. I vettori sono zanzare femmine del genere *Anopheles*.

STORIA DELLA MALARIA

La malaria infetterebbe l'umanità da oltre 50 mila anni. Le prime testimonianze risalgono al 2700 a.C. in Cina, e la prima descrizione del quadro clinico risale ad Ippocrate ne «*le Epidemie*» e negli «*Aforismi*» descrive la tipica febbre intermittente scaturita dalla malaria.

Lo sviluppo della malattia in l'Italia fu ostacolato dai romani per la loro abilità nelle opere di bonifica dei campi agricoli.

In seguito alla caduta dell'impero romano d'occidente ci fu la prima evidenza dell'arrivo in Europa del *Plasmodium falciparum*, individuata a seguito degli scavi della necropoli dei bambini di Lugnano in Teverina, nei pressi di una villa romana della valle del Tevere.

Il primo medico che intuì il coinvolgimento delle zanzare nella diffusione della malattia fu Giovanni Maria Lancisi. Alla fine dell'Ottocento si avevano in Italia 15 mila morti all'anno, soprattutto nel sud e nelle isole. La malaria in Italia fu eradicata intorno agli anni cinquanta, con campagne svolte dalla Rockefeller Foundation, un'importante organizzazione statunitense.

CURIOSITÀ

L'etimologia del termine «malaria» deriva da un termine medievale italiano «mal aria» ovvero cattiva aria, mentre il termine «paludismo» deriva dalla convinzione che la malattia fosse provocata dai miasmi provenienti dalle zone paludose. Questo termine venne utilizzato nel Settecento anche fuori dall'Italia per descrivere una febbre che compariva solo d'estate e che era spesso mortale.



Metodi di contagio

Essendo una malattia eritrocitica, la malaria non può essere trasmessa direttamente per contatto tra le persone, né tantomeno per via sessuale; tuttavia il parassita può essere trasmessa attraverso:

- **Trasfusioni di sangue**
- **Trapianto di organi**
- **Uso condiviso di aghi o siringhe contaminati da sangue**

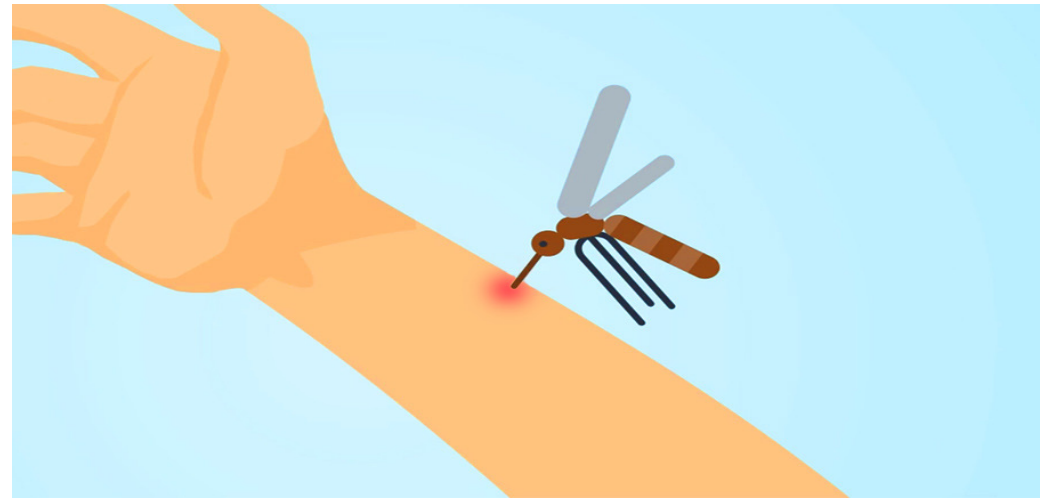
Inoltre il contagio può avvenire anche da madre a figlio prima del parto, causando la **malaria congenita**



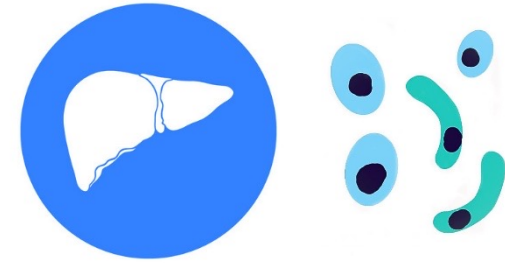
CICLO VITALE

Il ciclo vitale di questo parassita avviene in due fasi:

- La prima è **schizogonica** (asessuale) ed avviene nell'ospite vertebrato (uomo, scimmia, uccello, ecc.);
- La seconda è **sporogonica** (sessuale) ed avviene nella zanzara infetta



Fase asessuata



Quando la zanzara infetta punge l'uomo, inocula nel sangue gli **sporozoiti** (forma infestante del plasmodio), che sono il prodotto del complesso ciclo di sviluppo compiuto nell'anofele.

Una volta immessi nel circolo sanguigno, gli sporozoiti giungono al fegato, e in meno di un'ora scompaiono dal sangue.

Nell'epatocita avviene la prima fase della riproduzione asessuata, dove il parassita si accresce e si trasforma nello stadio denominato **schizonte**, da cui avranno origine dai 10000 ai 30000 **merozoiti**, di cui una parte andranno ad infettare i globuli rossi del sangue, dopo un intervallo di 1-3 settimane.

Questi ultimi daranno origine ad un successivo stadio detto **trofozoite** dividendosi più volte e dando luogo nuovamente a merozoiti.

Ha quindi inizio la **fase di emolisi** e l'**attacco febbrile**; l'emoglobina digerita dai parassiti diventa il pigmento **emozoina**, che, una volta in circolo, scatena la febbre malarica (ciò avviene ogni 48-72 ore a seconda della specie di *Plasmodium*). È a questo stadio che i plasmodi sono identificabili mediante un esame del sangue.

Alcuni merozoiti non diventano trofozoiti ma danno origine a forme sessuate dette **microgameti** (maschili, flagellati) e **macrogameti** (femminili).

A questo punto del ciclo interviene un'altra zanzara, sempre appartenente al genere *Anopheles*, che succhia il sangue infetto, dando inizio alla fase sessuale.

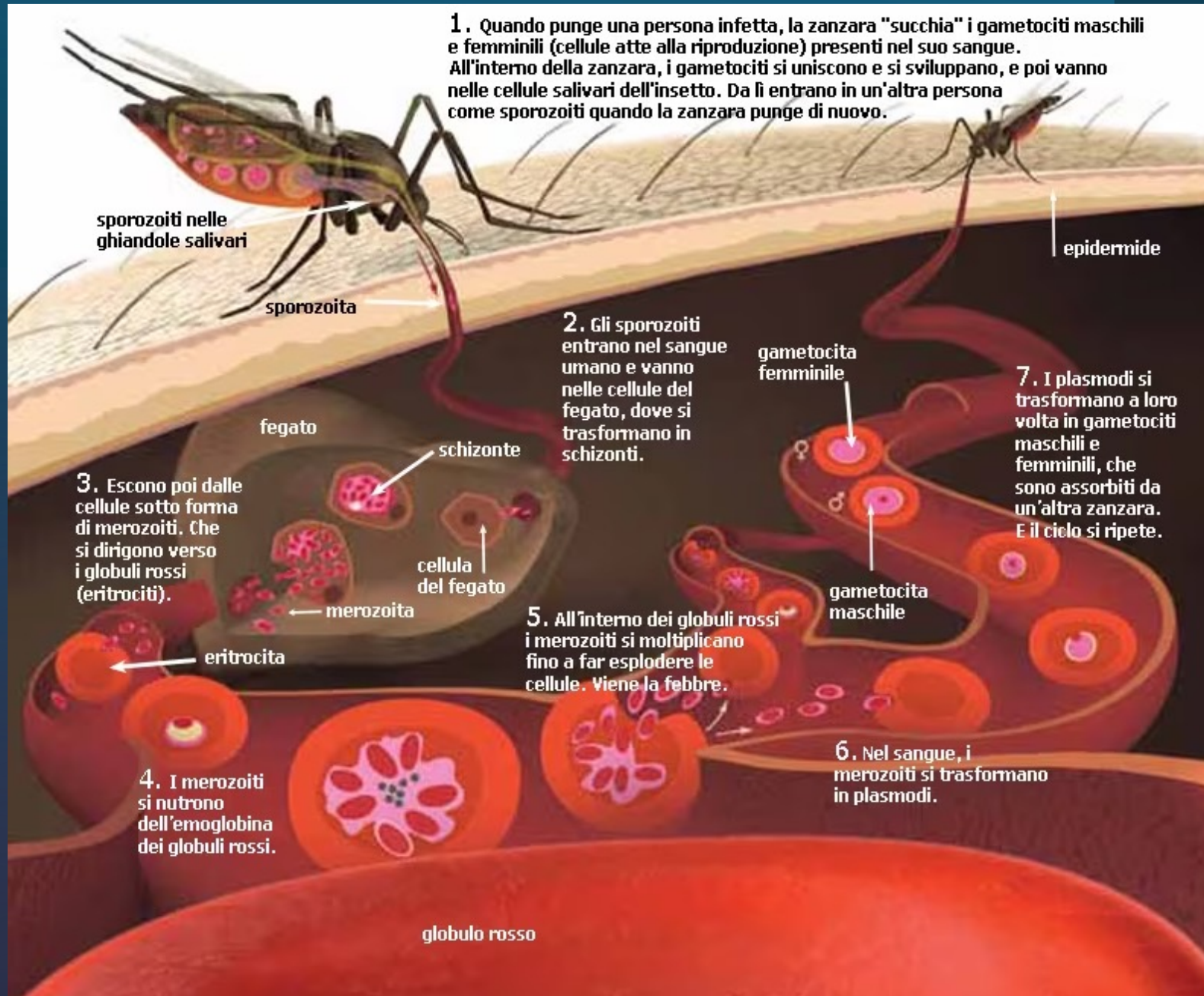
Fase sessuata



All'interno della zanzara vengono digeriti trofozoiti e merozoiti (le forme asessuate), mentre le forme sessuate resistono e danno inizio alla fecondazione per formare gli **zigoti**.

Quest'ultimi si incistano nelle pareti dell'intestino della zanzara diventando **oocisti**. Da questi si formeranno migliaia di sporozoiti, che si liberano e raggiungono le ghiandole salivari dell'insetto, pronti ad essere inoculati e ricominciare nuovamente il ciclo.

Schema riassuntivo

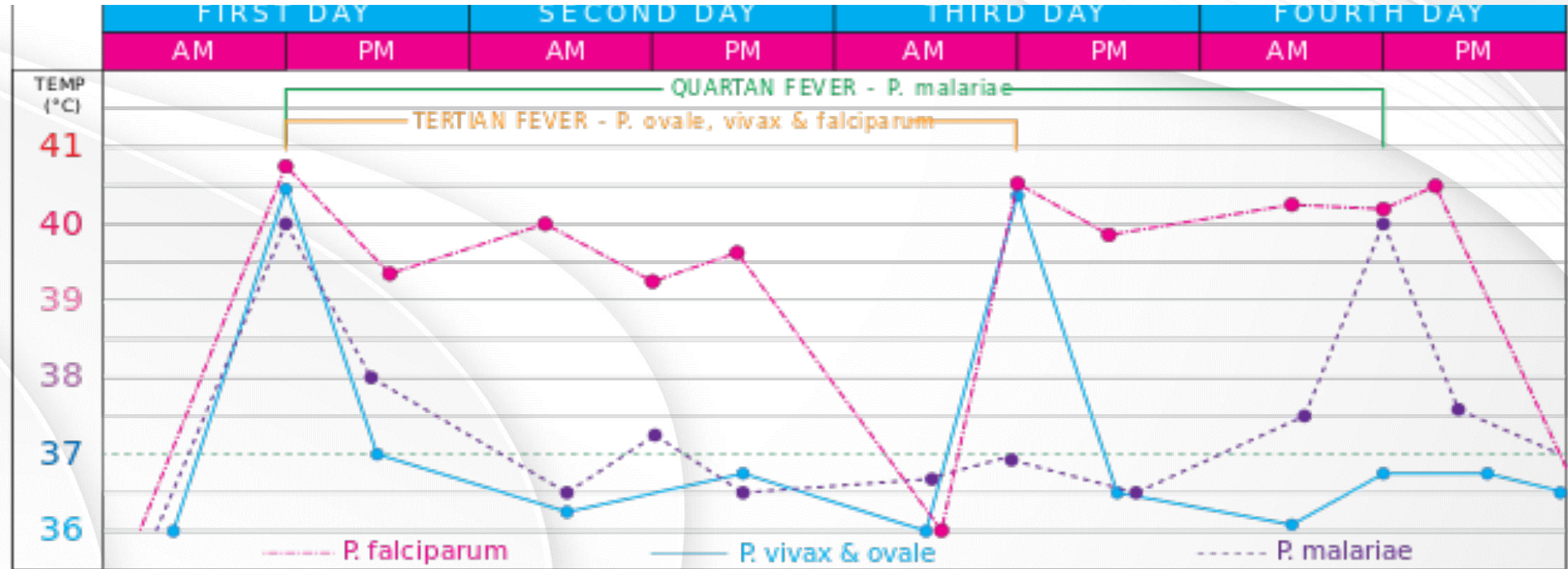
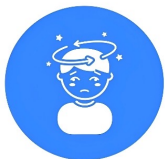


SINTOMATOLOGIA

In seguito ad una puntura da parte di una zanzara infetta, i sintomi possono manifestarsi dopo 7, 15, o più giorni.

Solitamente consistono in:

- Febbre alta
- Mal di testa
- Vomito
- Diarrea
- Sudorazioni
- Brividi
- Tosse
- Dolori muscolari



Nota: in alcuni soggetti c'è la possibilità che i sintomi siano più intensi, ciò è anche dovuto al tipo di plasmodio che scatuisce la malattia.

Malaria Areas & Risks



LA DIFFUSIONE

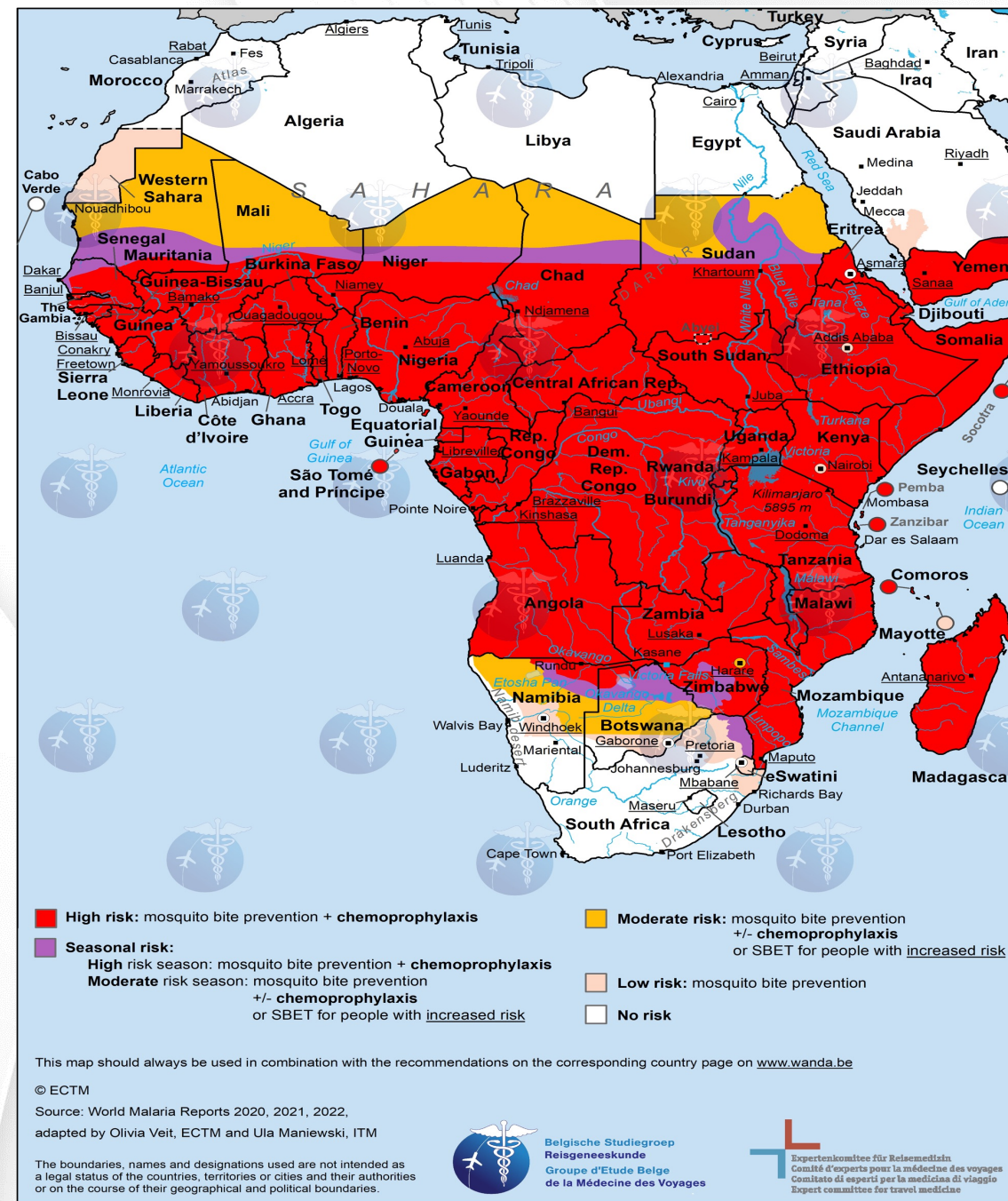
IN AFRICA

In africa la malaria è più diffusa rispetto al resto del mondo, per varie motivazioni, tra cui il clima tropicale tipico del territorio africano, particolarmente favorevole alla proliferazione delle zanzare.

Va considerato che l'Africa è uno dei continenti più poveri al mondo, quindi la povertà viene considerata come causa quanto come conseguenza della diffusione di questa malattia: molte persone vivono in zone rurali, con un sistema sanitario inefficiente o assente e non sono in grado di pagarsi le cure di cui avrebbero bisogno.

Questa situazione complessa è aggravata dal fatto che la popolazione africana deve far fronte a numerosi conflitti e tutti questi sono fenomeni che aumentano le condizioni di povertà delle persone.

Un ultimo rischio di contrarre la malaria aumenta per le persone affette da AIDS e in Africa si registrano oltre 25 milioni di casi di AIDS ogni anno.

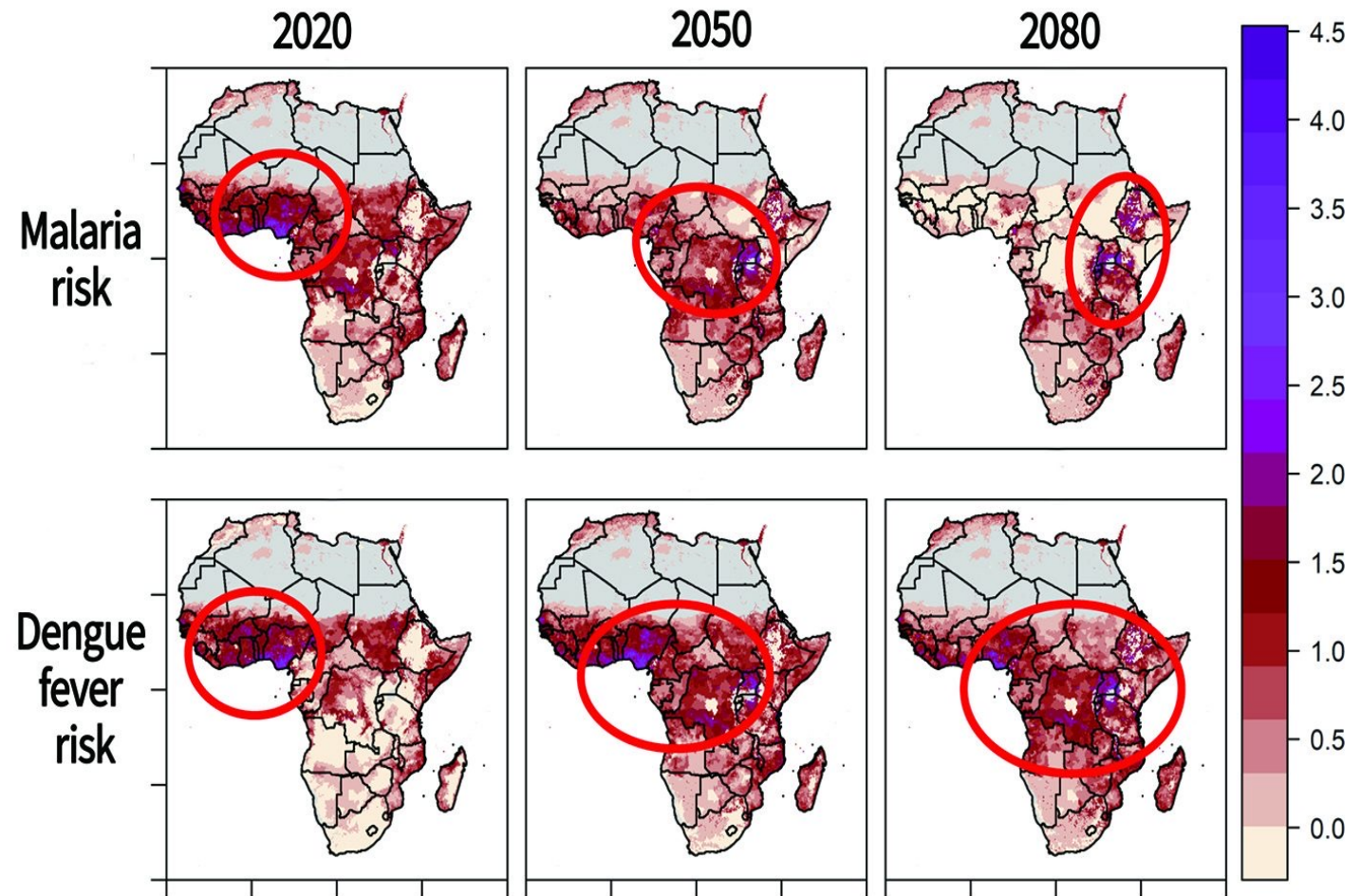


Il cambiamento climatico potrebbe aumentare la diffusione di malattie trasmesse dalle zanzare:

Uno studio pubblicato su Lancet Planetary Health mette in guardia dagli effetti del cambiamento climatico sulla diffusione delle malattie trasmesse dalle zanzare, prevedendo dove e quando l'aumento delle temperature e l'urbanizzazione abbasseranno i tassi di malaria, accrescendo invece quelli di altre malattie trasmesse dalle zanzare.

Ad esempio, è più probabile che la malaria si diffonda a 25 °C mentre il rischio di dengue è più alto a 29 °C.

In particolare, è probabile che le zanzare portatrici della malaria diminuiscano nelle regioni più calde, (come in Ghana), dove aumenterebbe invece il numero di zanzare che trasmettono la Dengue e altre malattie. Altre aree, secondo lo studio, correranno entrambi i rischi.



IN EUROPA

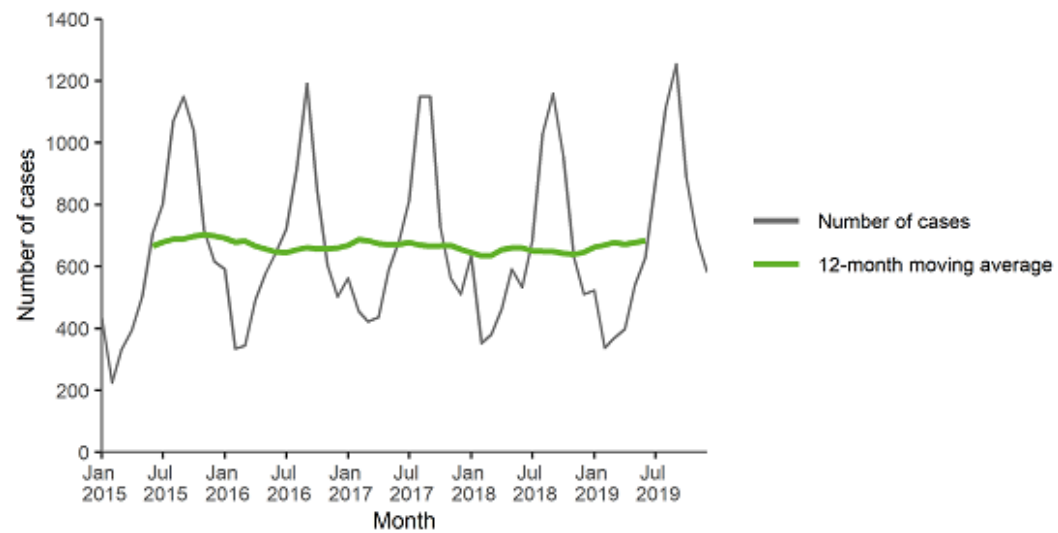
Il World Malaria Report del 2020 dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) riporta i dati relativi alla malaria nel mondo nel 2019, delineando anche le tappe fondamentali degli ultimi due decenni che hanno portato a notevoli progressi nel controllo della malaria in tutte le aree endemiche mondiali:

- In 29 Paesi dell'Unione europea (UE) e dello Spazio economico europeo (SEE) sono stati registrati 8641 casi di malaria (1,3 casi per 100.000 abitanti).
- Il 99,8% dei casi sono risultati associati a viaggi in aree endemiche.
- Si conferma l'andamento stagionale con un picco dei casi in corrispondenza del periodo di vacanze estive (luglio-settembre).
- La fascia di età maggiormente coinvolta rimane quella compresa tra 24-44 anni.

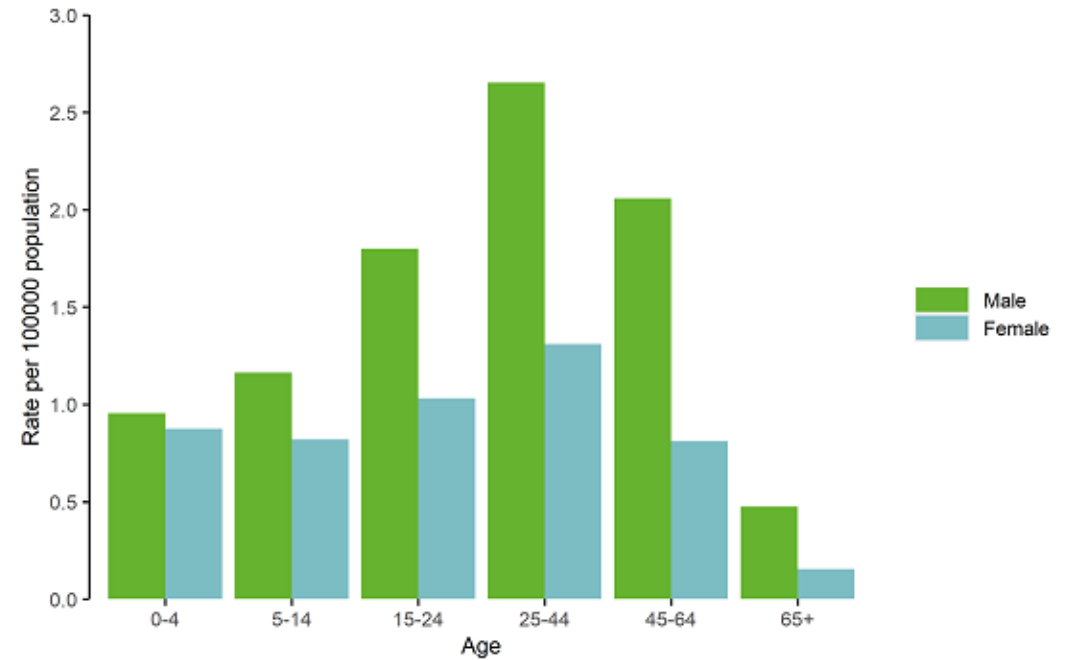
Nell'articolo viene ribadito inoltre che i Paesi dell'UE/SEE con il maggior numero di casi sono quelli che hanno legami storici, linguistici e culturali con aree a endemia malarica, soprattutto dell'Africa e delle Americhe. Una parte importante dei casi vede coinvolti i migranti al primo ingresso provenienti da aree endemiche e gli immigranti che tornano nei loro Paesi di origine per visitare amici e parenti.



Country	2015		2016		2017		2018		2019		
	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	ASR
Austria	81	0.9	82	0.9	78	0.9	62	0.7	72	0.8	0.8
Belgium	276	2.5	311	2.7	249	2.2	357	3.1	417	3.6	3.7
Bulgaria	20	0.3	28	0.4	8	0.1	8	0.1	8	0.1	0.1
Croatia	7	0.2	4	0.1	10	0.2	2	0.0	3	0.1	0.1
Cyprus	3	0.4	1	0.1	8	0.9	4	0.5	4	0.5	0.4
Czechia	29	0.3	38	0.4	27	0.3	34	0.3	32	0.3	0.3
Denmark	101	1.8	102	1.8	94	1.6	64	1.1	-	-	-
Estonia	4	0.3	1	0.1	2	0.2	3	0.2	3	0.2	0.2
Finland	39	0.7	47	0.9	36	0.7	34	0.6	50	0.9	1.0
France	2500	-	2447	-	2712	-	2840	-	2840	-	-
Germany	1061	1.3	962	1.2	957	1.2	899	1.1	993	1.2	1.3
Greece	84	0.8	121	1.1	107	1.0	55	0.5	40	0.4	0.4
Hungary	12	0.1	17	0.2	12	0.1	17	0.2	12	0.1	0.1
Iceland	-	-	2	0.6	3	0.9	3	0.9	4	1.1	1.0
Ireland	82	1.8	88	1.9	78	1.6	60	1.2	80	1.6	1.6
Italy	706	1.2	888	1.5	830	1.4	722	1.2	792	1.3	1.4
Latvia	1	0.1	3	0.2	1	0.1	4	0.2	4	0.2	0.2
Liechtenstein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lithuania	8	0.3	3	0.1	6	0.2	6	0.2	7	0.3	0.3
Luxembourg	1	0.2	5	0.9	11	1.9	13	2.2	13	2.1	2.1
Malta	7	1.6	7	1.6	12	2.6	7	1.5	20	4.1	3.9
Netherlands	680	4.0	245	1.4	202	1.2	252	1.5	180	1.0	1.1
Norway	94	1.8	75	1.4	61	1.2	54	1.0	196	3.7	3.6
Poland	29	0.1	38	0.1	27	0.1	28	0.1	24	0.1	0.1
Portugal	194	1.9	197	1.9	92	0.9	102	1.0	116	1.1	1.2
Romania	30	0.2	21	0.1	15	0.1	18	0.1	22	0.1	0.1
Slovakia	0	0.0	4	0.1	0	0.0	3	0.1	6	0.1	0.1
Slovenia	5	0.2	6	0.3	11	0.5	3	0.1	6	0.3	0.3
Spain	706	1.5	755	1.6	818	1.8	851	1.8	783	1.7	1.7
Sweden	250	2.6	154	1.6	150	1.5	189	1.9	205	2.0	2.1
United Kingdom	1397	2.2	1574	2.4	1810	2.7	1669	2.5	1706	2.6	2.6
EU-EEA	8407	1.3	8226	1.3	8427	1.3	8363	1.2	8638	1.3	1.3



Casi accertati di malaria negli anni 2015-2019



Tasso di persone che hanno contratto la malaria nel 2019 individuate in 100,000 persone

IN ITALIA

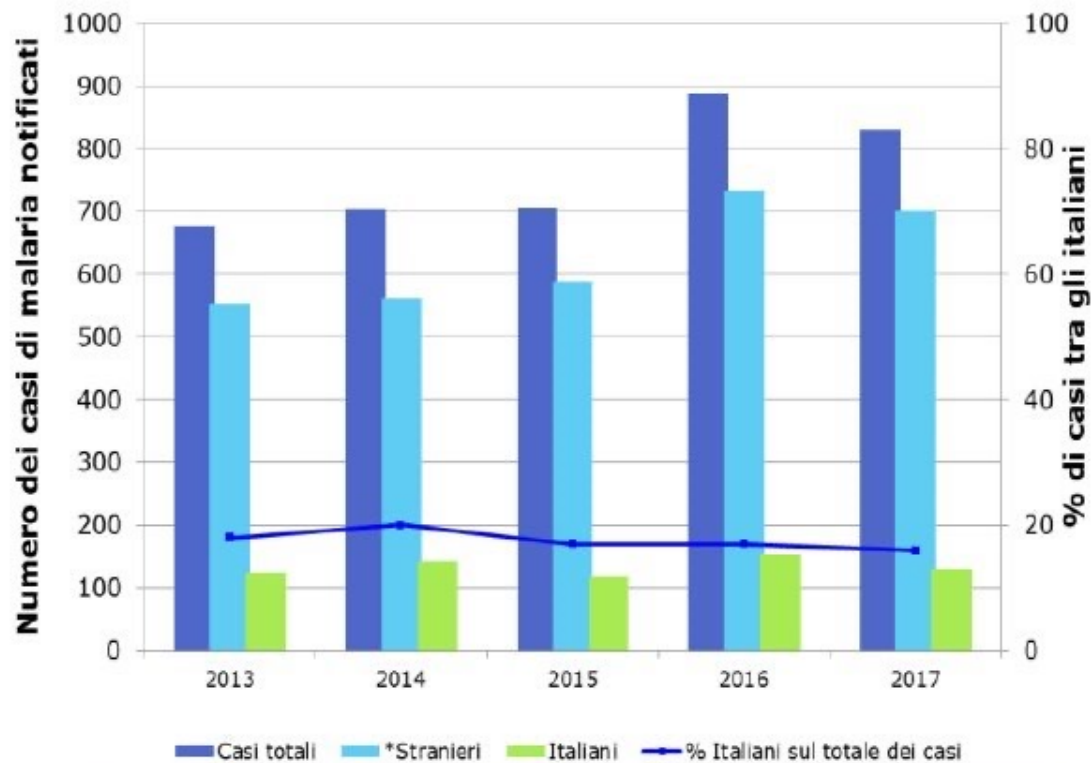
All'inizio della seconda guerra mondiale la malaria era ancora presente su buona parte del nostro territorio, in particolare al centro sud, nelle isole maggiori e lungo le fasce costiere delle regioni nord-orientali e sporadicamente anche nella Pianura Padana.

La trasmissione della malaria fu interrotta a conclusione della Campagna di Lotta Antimalarica (1947-51), da quel momento casi sporadici si verificarono in Sicilia fino agli inizi degli anni '60, da quel momento, a partire dal 1970 l'OMS incluse l'Italia tra i paesi indenni da malaria.

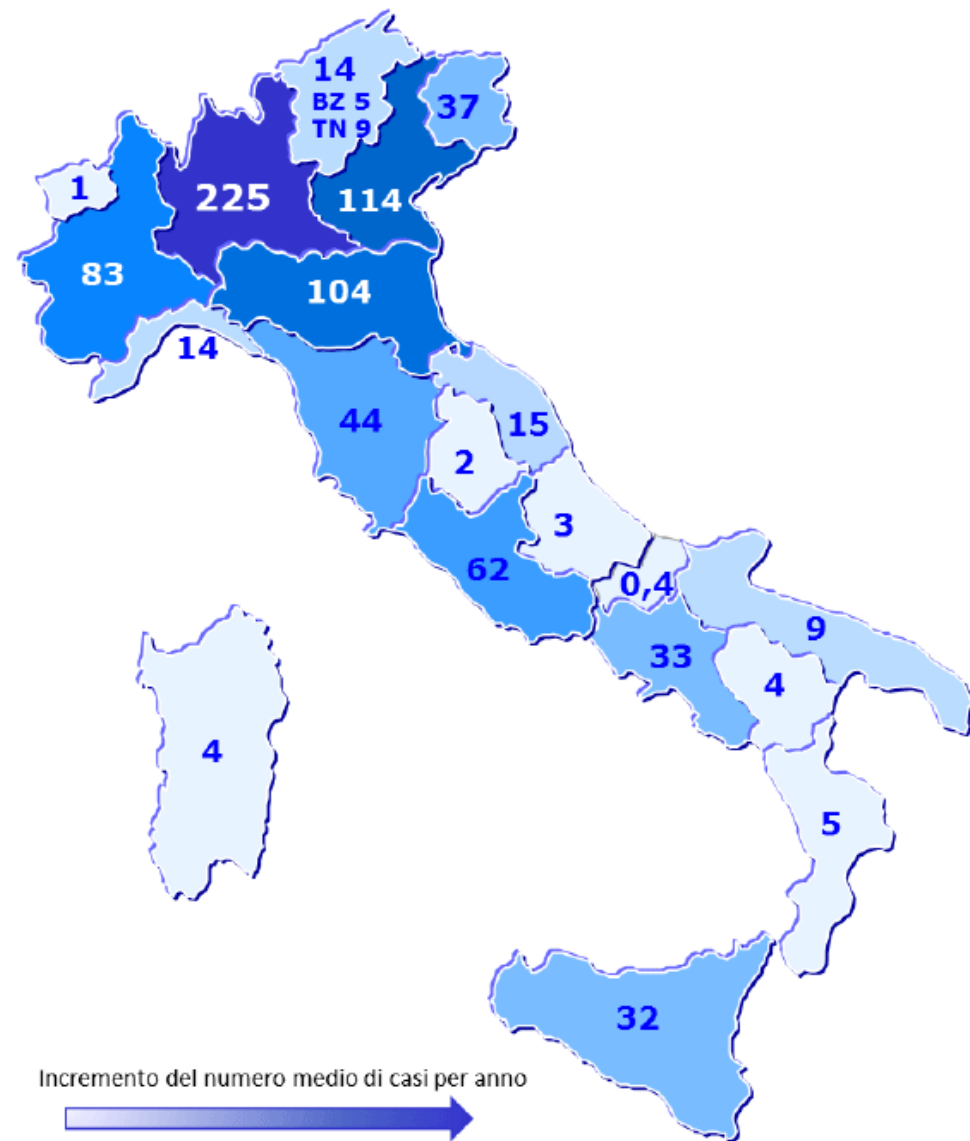
Tuttavia nel nostro paese continuano a essere presenti zanzare del genere *Anopheles*, potenziali vettori di malaria. La malattia è soggetta a notifica obbligatoria e il ministero della Salute e l'Istituto superiore di sanità hanno l'incarico di mantenere un Sistema di sorveglianza nazionale per la valutazione annuale della situazione epidemiologica dei casi importati, e per poter intervenire prontamente sul territorio.

In Italia attualmente sono segnalati circa 800 casi all'anno ma, anche in questo caso, questi sono dovuti a migranti provenienti da zone malariche o ancora coloro che si recano temporaneamente nei Paesi di origine per poi tornare in Italia, nonché a italiani che per vari motivi si sono recati all'estero in zone malariche.

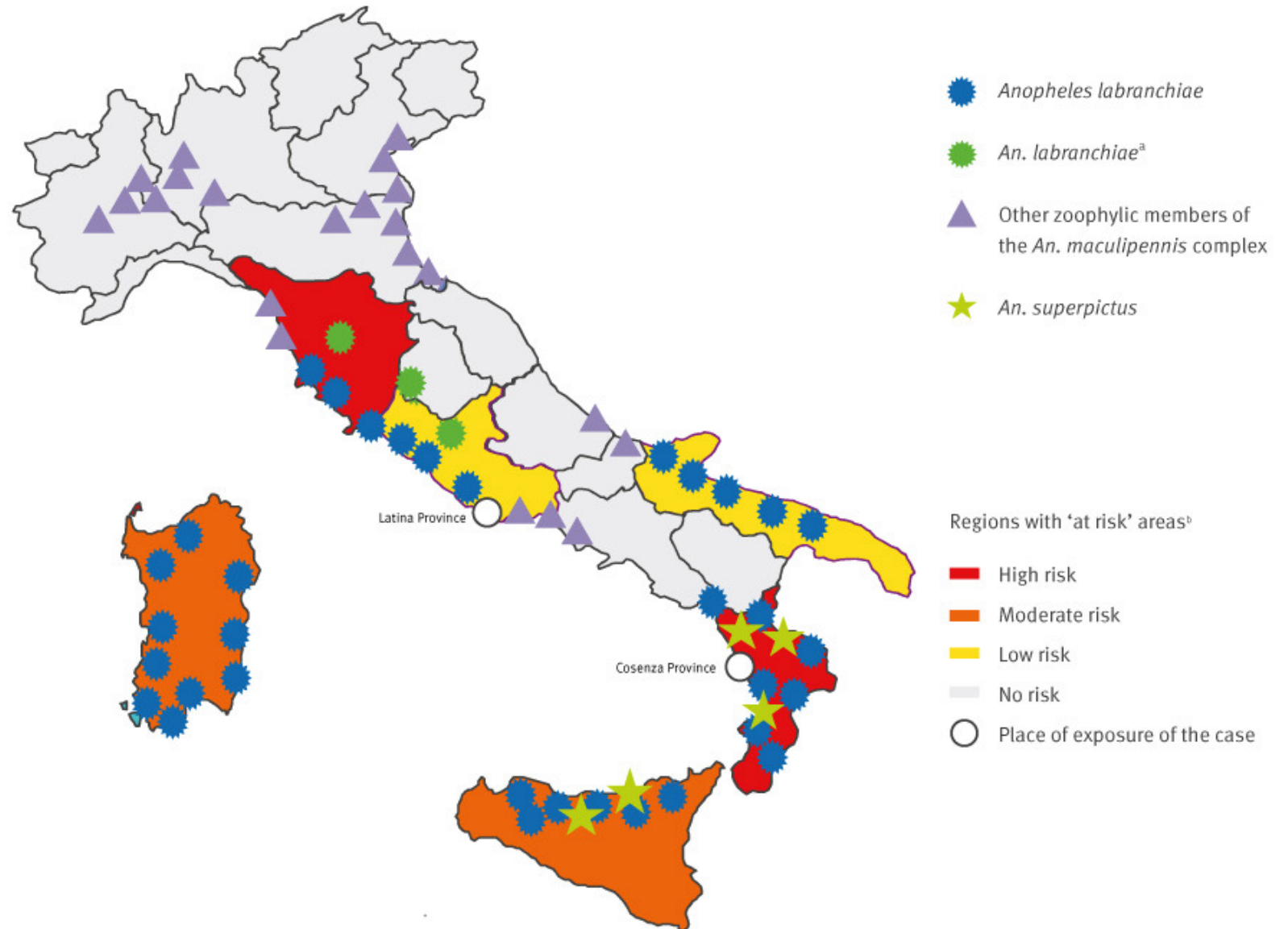
Figura 3. Andamento dei casi 2013-2017.



Tra gli Stranieri sono inclusi sia i casi di immigrati regolarmente residenti in Italia in viaggio nei loro paesi di origine che i casi di migranti al primo ingresso.



Principale distribuzione di zanzare del genere *Anopheles* in Italia



IN CAMPANIA

In Campania sono stati registrati solo sporadici casi di malaria risalenti all'anno 2017:

≡ **TODAY** Città

MALATTIE / NAPOLI

Nuovo caso di malaria, due bambini ricoverati in ospedale

<https://www.today.it/citta/napoli-bambini-malaria.html>

IL  **MATTINO**

Malaria a Napoli, sei migranti malati salvata bimba di venti mesi

https://www.ilmattino.it/napoli/cronaca/malaria_a_napoli_sei_migranti_malati_salvata_bimba_di_venti_mesi-3259185.html

Risalente al 07/09/2017

Risalente al 23/09/2017

DECESSI PER MALARIA

I decessi per malaria si sono costantemente ridotti nel periodo che va dal 2000 al 2019, si stima in fatti che all'inizio del secolo i decessi siano stati circa 736 mila, mentre nel 2019, questo numero è calato a 409 mila. Ogni anno nel mondo **655 mila persone muoiono di malaria**, una malattia alla quale è esposta il **40% della popolazione mondiale**, prevalentemente nei Paesi poveri. Circa il 95% di questa percentuale si raggruppa in 106 paesi.



A scientist in a white lab coat and blue gloves is working in a laboratory. The scientist is using a pipette to transfer a small amount of green liquid into a petri dish. A microscope is visible on the right side of the frame. The background is slightly blurred, showing other laboratory equipment and a window with greenery outside. The overall scene is brightly lit, suggesting a clean and professional environment.

DIAGNOSI DELLA MALARIA

METODI DI DIAGNOSI

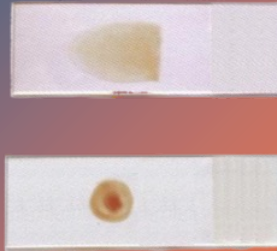
La diagnosi della malaria va necessariamente eseguita su immigrati o viaggiatori di rientro da una regione endemica, nonostante non possano essere presenti sintomi, in quanto questi possono richiedere fino a 2 anni prima della manifestazione della malattia.

I principali metodi di diagnosi sono metodi diretti come ad esempio:

- Esame microscopico su “striscio sottile” e “goccia spessa”
- QBC Test (fluorocromi)
- Test immunocromatografici (TDR)
- Tecniche di amplificazione acidi nucleici (NAAT) (PCR – LAMP)



+



○

STRISCIO SOTTILE – GOCCIA SPESSA

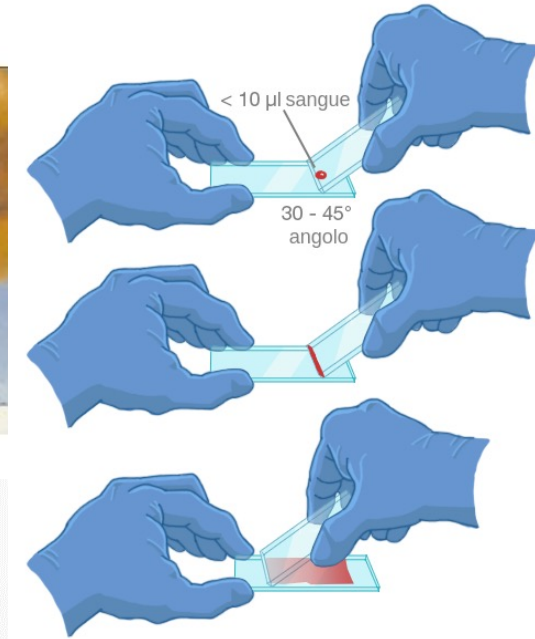
Il sangue viene prelevato attraverso puntura e i campioni devono essere trasportati in laboratorio entro un'ora dal momento del prelievo.

Per il prelievo si predilige

- Sangue venoso periferico con anticoagulante (EDTA)
- Sangue capillare da puntura del polpastrello

DIFFERENZE TRA I 2 METODI:

STRISCIO SOTTILE	GOCCIA SPESSA
Rapidità di esecuzione	Osservazione di maggiore quantità di sangue
Identificazione più semplice	Difficile l'identificazione per occhi non esperti
Parassitemia= 0.002%	Parassitemia= 0.0002%
Tempi di osservazione lunghi	Tempi di osservazione ed identificazione minore
Sensibilità minore (100 parassiti per uL di sangue)	Permette di osservare più parassiti per campi di osservazione



Parassitemia:

Permette di valutare la quantità di parassiti media e massima, misurata in rapporto con 1µl di sangue.

Stabilire la percentuale:

$$\frac{\text{Numero di emazie parassitate}}{\text{Numero totale di emazie contate}} \times 100 = \% \text{ di emazie parassitate}$$

Se la parassitemia è bassa (<1%) contare almeno 2.000 emazie.

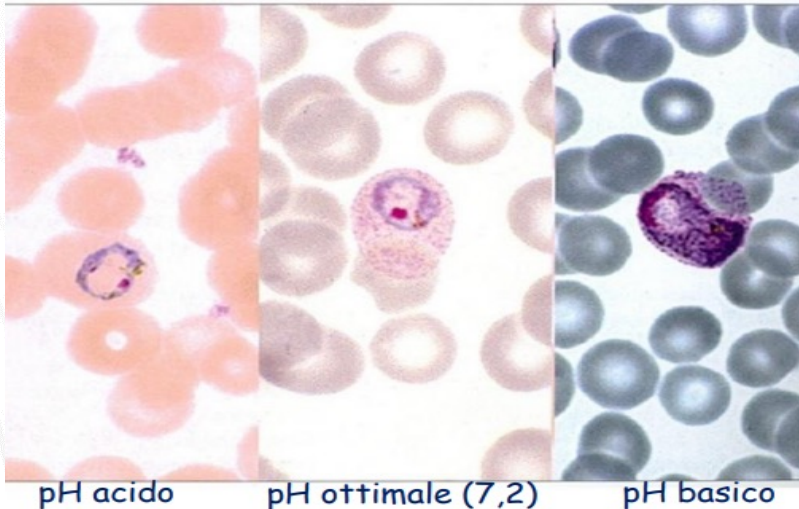
COLORAZIONE DI GIEMSA

Per una corretta osservazione l'OMS raccomanda la colorazione di Giemsa.

Il colorante di Giemsa è una miscela stabilizzata di eosina, che colora la cromatina del parassita e i granuli in rosa-rosso.

Il blu di metilene colora il citoplasma parassitario in azzurro.

L'acqua di diluizione del colorante deve avere un pH neutro tra pH 7 e 7,4 che aiuta a garantire una colorazione di qualità.



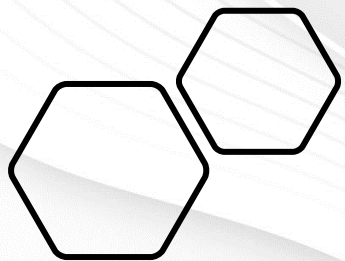
Protocollo May Grunwald Giemsa

REAGENTI:

- Soluzione colorante May Grunwald (complesso di eosina e blu di metilene in alcool metilico);
- Soluzione colorante di Giemsa (vari composti di azzurri-tionina, associati all'eosina e al blu di metilene)

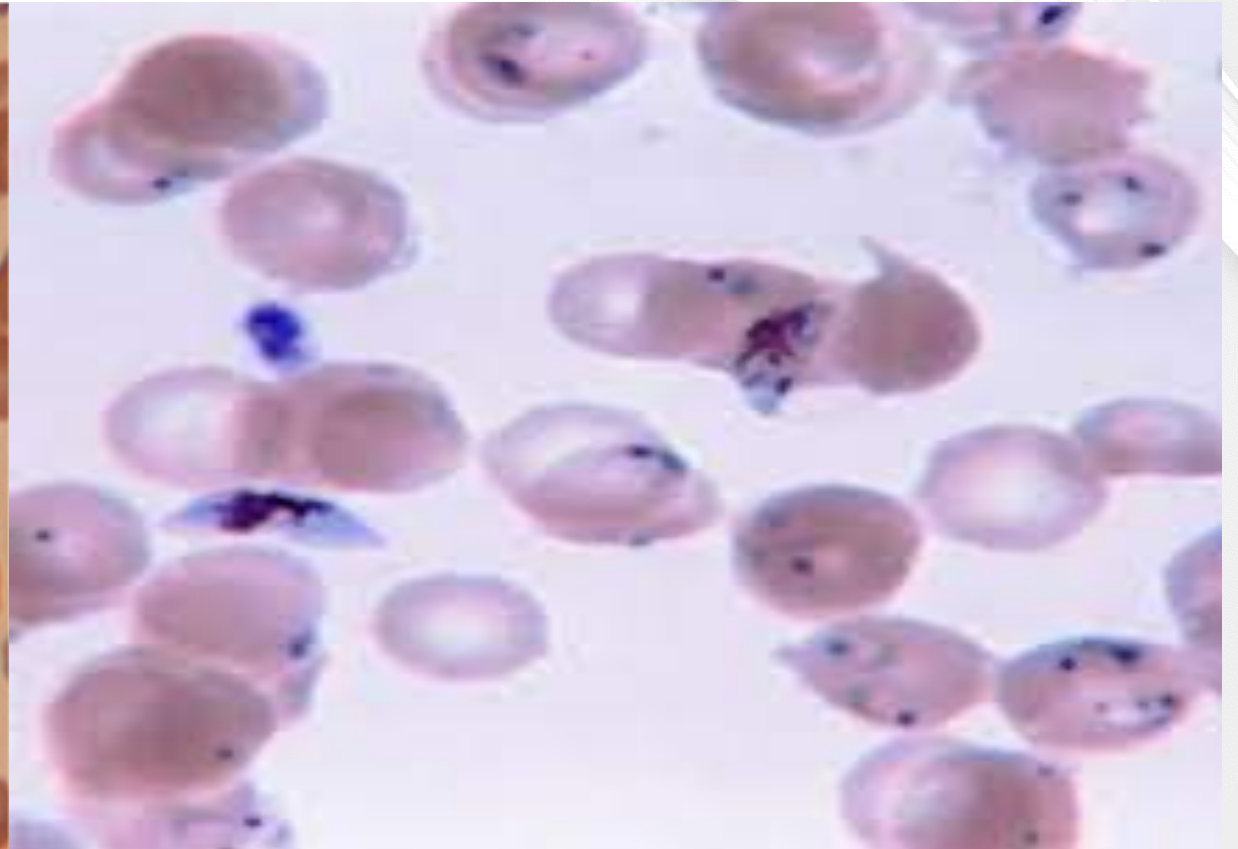
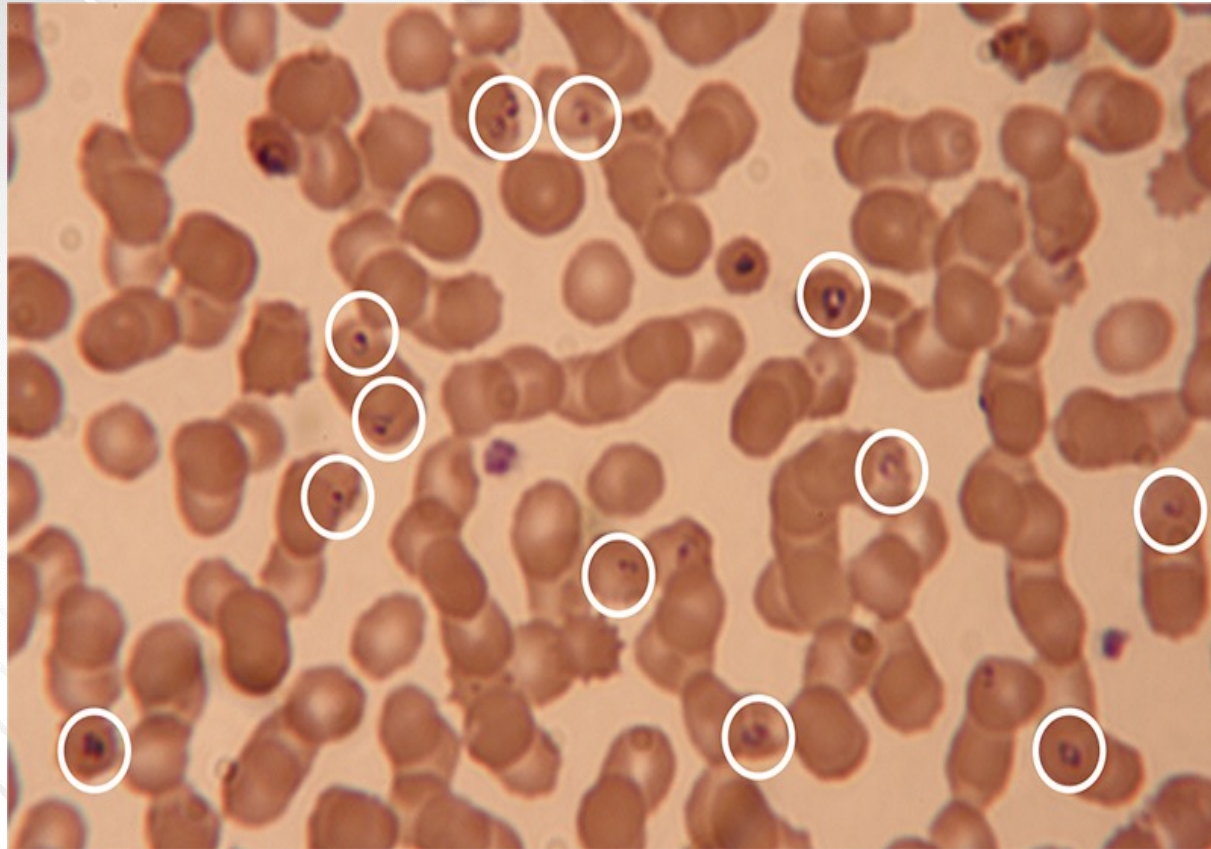
PROCEDIMENTO

- 1-Essiccare i vetrini all'aria;
- 2-In un cilindro graduato 6ml di acqua distillata per ogni vetrino da colorare e con una pipetta aggiungere 1 goccia di Giemsa per ogni ml di acqua, mescolare;
- 3-Coprire i vetrini con la soluzione May-Grunwald per 3 minuti;
- 4-Lavare con abbondante acqua distillata e lasciarla per 1 minuto;
- 5-Eliminare l'acqua distillata, versare su ciascun vetrino la soluzione di Gimsa diluita (punto 2) per 25/30 minuti;
- 6-Lavare in acqua corrente;
- 7-Asciugare e montare.



P
R
O
C
E
D
I
M
E
N
T
O

OSSERVAZIONI AL MICROSCOPIO



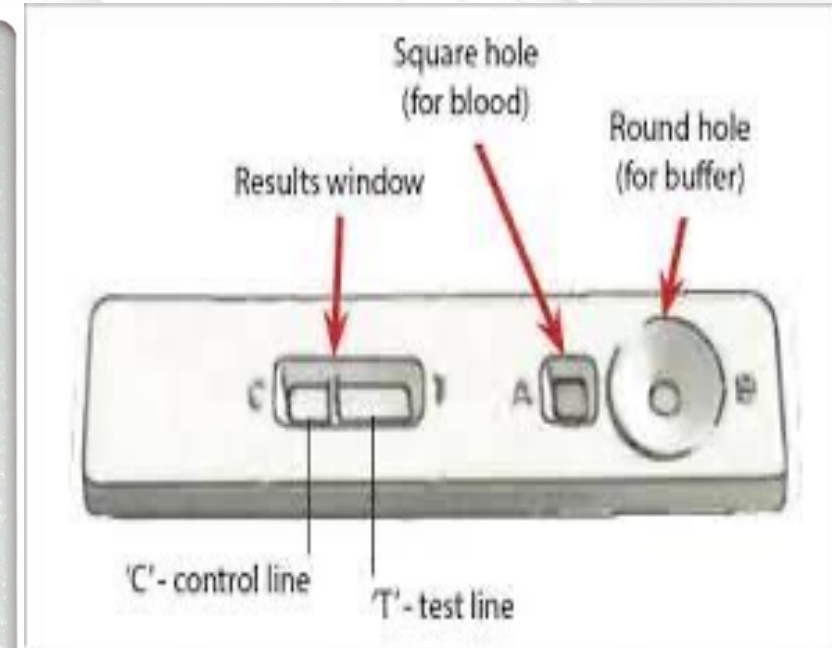
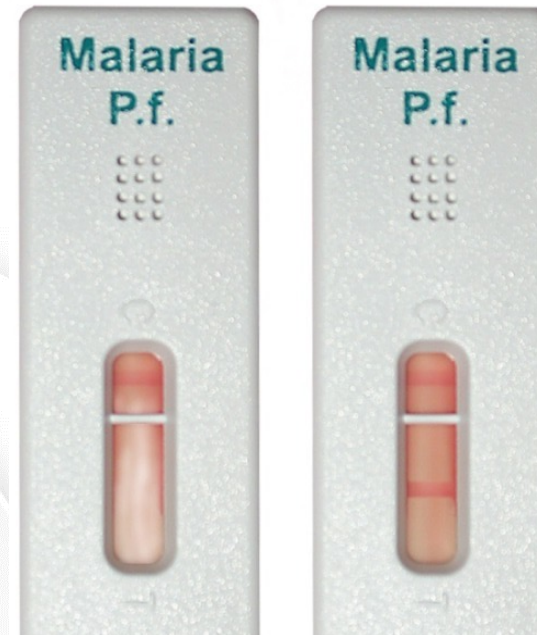
TECNICHE IMMUNOCROMATOGRAFICHE

In commercio sono reperibili molti RDT (RAPID DIAGNOSTIC TEST) per la malaria, alcuni per la ricerca del solo *P. falciparum*, altri per *P. vivax*. Questi test sono molto utili nella diagnosi rapida della patologia.

Gli RDT rilevano in larga parte antigeni come ad esempio

- *Plasmodium* glutammato deidrogenasi
- Una proteina ricca di Istidina 2 (HRP-2) associata ai parassiti malarici,
- La lattato deidrogenasi, Un'altra proteina che viene rilevata ed è associata a *P. falciparum*

La sensibilità e la specificità dei RDT sono variabili e la loro vulnerabilità alle temperature elevate e all'umidità sono un inconveniente molto importanti.



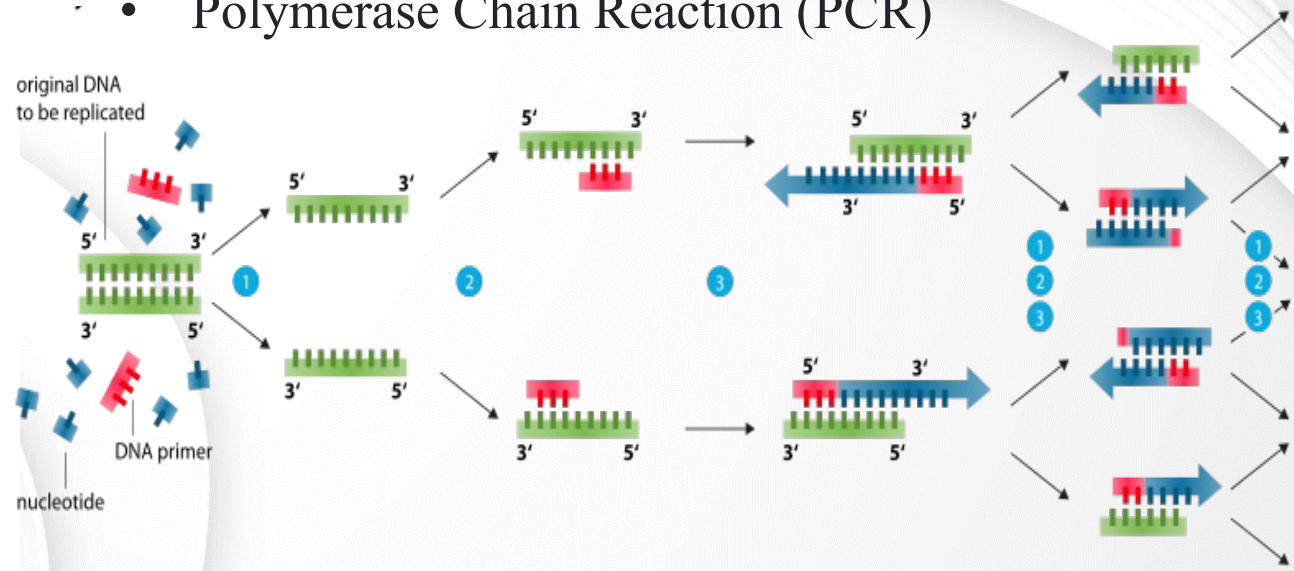
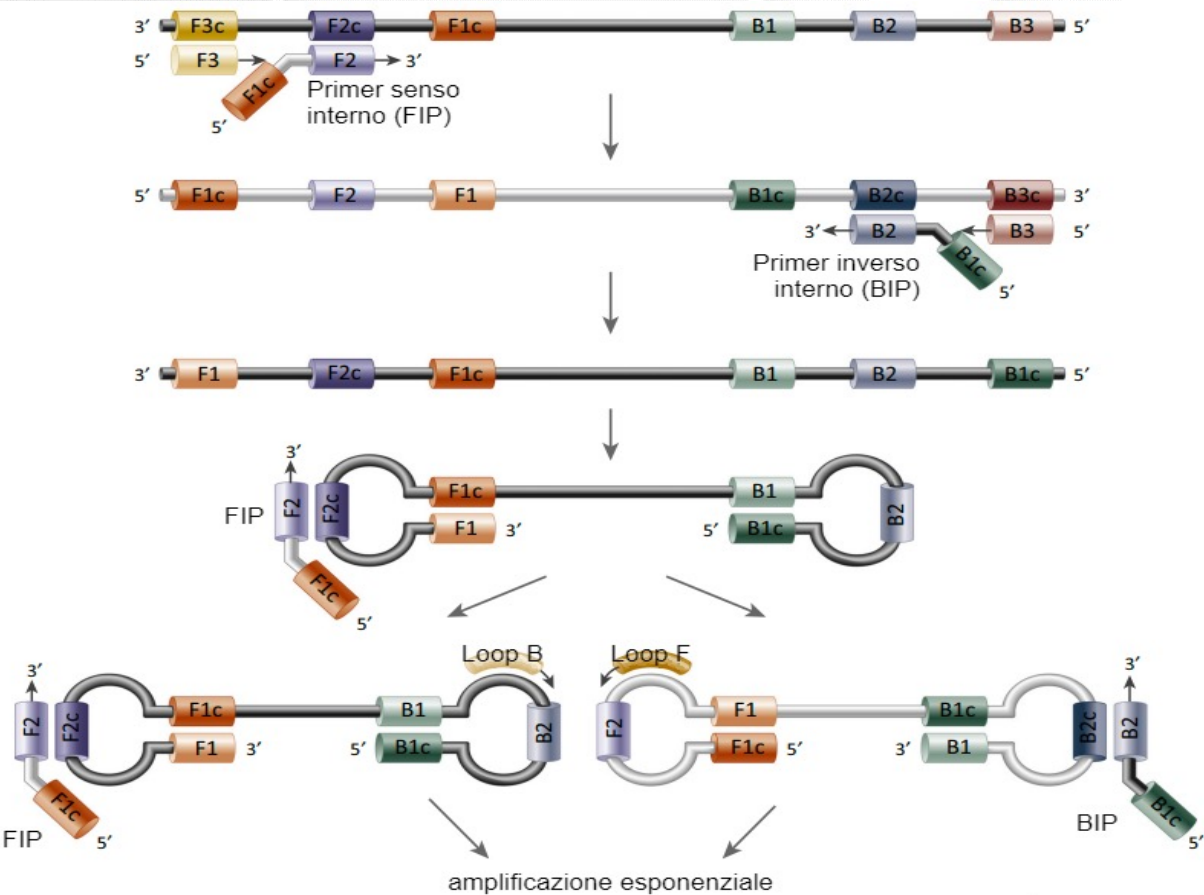
VANTAGGI	SVANTAGGI
FACILE ESECUZIONE	SENSIBILITÀ BASSA E VARIABILE(2-48%), SPECIFICITÀ MOLTO VARIABILI ANCHE NELLO STESSO LOTTO
RISULTATI IN TEMPI BREVI(15-20min.)	VULNERABILE ALLE TEMPERATURE ELEVATE ED ALTE UMIDITÀ
ALTA SPECIFICITÀ(>90%) PER <i>P. falciparum</i> e <i>P. vivax</i> (p-LDH).	PRESENZA DI FALSI POSITIVI E FALSI NEGATIVI

TECNICHE MOLECOLARI (NAAT)

In commercio vi sono molteplici NAAT per la diagnosi dei principali ceppi di *Plasmodium*. Per la ricerca di plasmoidi si utilizzano principalmente:

- Loop mediate isothermal amplification (LAMP)

- Polymerase Chain Reaction (PCR)



- 1 Denaturation at 94-96°C
- 2 Annealing at ~68°C
- 3 Elongation at ca. 72 °C

VANTAGGI	SVANTAGGI
ELEVATA SENSIBILITÀ	ELEMENTI VITALI E NON VITALI NON DISTINGUIBILI
DIAGNOSI SPECIE-SPECIFICA	TEMPI PIÙ LUNGI
EPIDEMIOLOGIA	PROBLEMATICHE NELLA STANDARDIZZAZIONE
RILEVAZIONI DI RESISTENZA AI FARMACI	BISOGNO DI COMPETENZE ELEVATE

LAMP VS PCR

LAMP è una tecnica ad alta sensibilità di amplificazione degli acidi nucleici isotermica in provetta singola utilizzata per l'amplificazione del DNA



Non richiede un termociclatore

Alternativa a basso costo

La reazione è composta da due steps:

- durante la prima parte della reazione sono coinvolte le due coppie di primers FIP-BIP e F3-B3 (+ 2 opzionali LF-LB)
- successivamente per lo spiazamento dei filamenti e per la sintesi del DNA vengono coinvolti soltanto i primers esterni (FIB-BIP).

La reazione avviene mediante l'interazione dei reagenti con il DNA bersaglio all'interno di una provetta, a una temperatura costante compresa tra i 60°C e 65°C.

PCR è una tecnica di biologia molecolare che consente l'amplificazione di frammenti di acidi nucleici e sequenze nucleotidiche. Consente di ottenere *in vitro alte* quantità di materiale genetico.



Richiede un termociclatore

Tempi e costi più elevati

L'allestimento di una PCR standard si richiedono 4 passaggi:

- Aggiunta dei reagenti necessari e del DNA stampo alle microprovette per PCR.
- Miscelazione e centrifugazione.
- Amplificazione secondo i parametri del termociclatore e aggiunta dei primer.
- Valutazione del DNA amplificato mediante elettroforesi su gel di agarosio poi colorato con bromuro di etidio.

La **PCR** consiste in una ripetizione ciclica di tre fasi: denaturazione del DNA, appaiamento (annealing) dei primers ed estensione della sequenza. Ogni ciclo viene generalmente ripetuto da 25 a 40 volte.

Confronto tempistiche PCR/LAMP

PCR: Estrazione ≈1h, Ampl., Rilevazione ≥ 1h,30'

TOT ≥2h,30'

LAMP: Amplificazione e Rilevazione < 60'

TOT <60'

CURA E TRATTAMENTO DELLA MALARIA

La cura della malaria si basa su un gruppo di farmaci antimicrobici chiamati antimalarici. Questi vengono utilizzati a seconda dell'azione che hanno sui differenti momenti del ciclo riproduttivo del parassita nell'organismo umano.

I farmaci antimalarici sono scelti in base al:

- *Plasmodium* infettante
- Modelli di resistenza noti dei ceppi presenti
- Efficacia e effetti avversi dei farmaci disponibili

Il farmaco più utilizzato è la **cloroquina** (utilizzato anche durante la pandemia da SARS-CoV2), il quale è in grado di penetrare nel parassita e impedire la sua riproduzione all'interno dei globuli rossi,

Inoltre, un elemento fondamentale per la scelta dell'antimalarico è il profilo di **resistenza** del parassita; in questi casi si utilizza **l'artemisinina** o suoi derivati che producono radicali liberi uccidendo il parassita.

Dato il rischio di emolisi ritardata, spesso presente nella malaria iperparassitaria trattata con artesunato EV, i livelli di emoglobina devono essere monitorati per 4 settimane dopo la terapia.





PROBLEMATICHE EMERGENTI

Resistenza ai farmaci

Il fenomeno della resistenza ai farmaci è un serio problema ricorrente, che da sempre ostacola i programmi di lotta alla malaria. Iniziato a fine anni '50 con la diffusione della resistenza alla cloroquina.

Nel 2008, purtroppo alcuni scienziati hanno evidenziato anche la resistenza ai derivati dell'artemisinina da parte di *P. falciparum* e si è diffusa in tutto il Sud-est asiatico. L'OMS teme che l'insorgenza di resistenza a questi farmaci di ultima generazione possa rendere rapidamente vani i progressi ottenuti negli ultimi anni, soprattutto se la resistenza a questa classe di antimalarici dovesse diffondersi in Africa.



PROBLEMATICHE EMERGENTI

Resistenza agli insetticidi

Anche la comparsa della resistenza agli insetticidi è da tempo motivo di forte preoccupazione.

Ad oggi oltre 68 Paesi hanno segnalato resistenza a una o più classi di insetticidi comunemente impiegati per le zanzare e per i trattamenti nelle abitazioni.

L'OMS sottolinea la necessità di sviluppare efficaci strategie di gestione della resistenza agli insetticidi ed identificare l'approccio più efficace per gestire il fenomeno della resistenza.

Multiplex loop mediated isothermal amplification (m-LAMP) as a point of care technique for diagnosis of malaria

Sharma, Supriya[#]; Singh, Jaskirat[#]; Sen, Aparajita; Anvikar, Anupkumar R

Author Information 

Journal of Vector Borne Diseases 59(1):p 29-36, Jan-Mar 2022. | DOI: 10.4103/0972-9062.331409

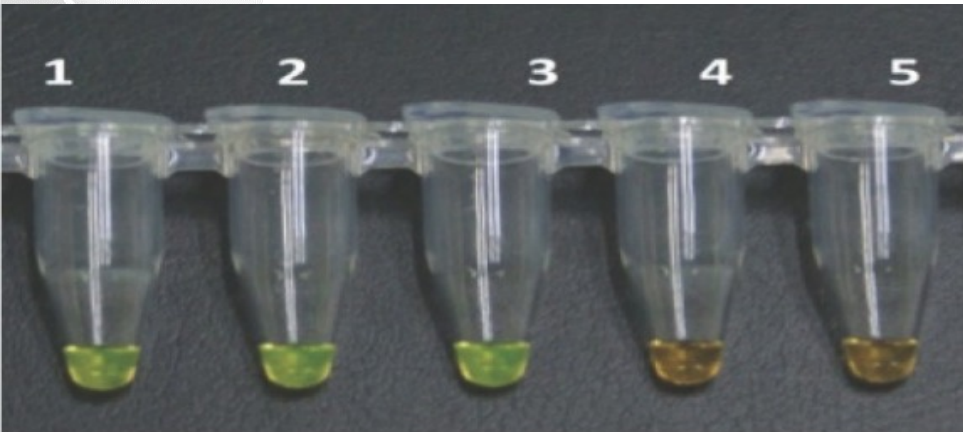


Fig. 2A: LAMP results on addition of SYBR green dye showing 1-3 as Positive and 4-5 as a Negative reaction (Source: Kumar *et al.* 2021³¹)

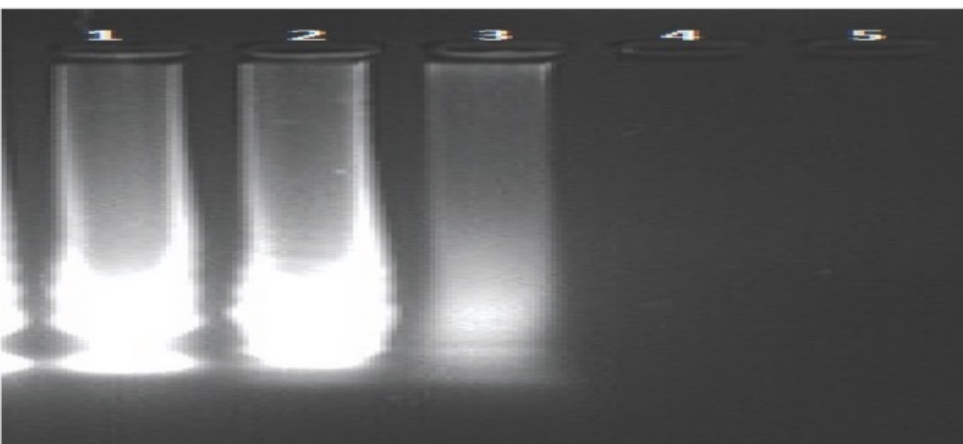


Fig. 2B: LAMP results on Gel electrophoresis, showing 1-3 as Positive and 4-5 as a Negative reaction (Source: Kumar *et al.* 2021³¹)

Una nuova frontiera nella diagnosi precoce della malaria risiede nella tecnica LAMP. Nel 2022 Sharma et al hanno svolto una ricerca scientifica sul possibile impiego della multiplex LAMP come nuovo metodo di diagnosi precoce. Si tratta di una tecnica a base molecolare, quantitativa, specie-specifica, che richiede competenze moderate, risparmio di tempo ed è economica.

Vantaggi m-LAMP

- Utilizza più primer in un'unica reazione, il che permette diagnosi in tempi più brevi (circa 20 minuti)
- Ha un'elevata sensibilità e specificità di rilevamento

Nonostante abbia molti vantaggi m-LAMP possiede ancora alcuni svantaggi della LAMP base come ad esempio la presenza di falsi positivi.

Questo problema però può essere risolto ottimizzando le condizioni del test come la concentrazione di primer, dNTP, polimerasi e tempo di cut-off

S. No.	Method use	Sensitivity	Specificity	Authors	Reference Method	Organism/ Disease	Time	Analytical Limit
1	M μ LAMP	>95%	100%	Mao <i>et al.</i> , 2018	Microscopy	Chinese <i>Anopheles</i> mosquito	within 45 min	1 pg
2	Paper-Based Microfluidic Device with Multiplex LAMP System.	>98%	NA	Rebound <i>et al.</i> , 2018	RT-PCR	<i>Plasmodium</i>	less than 50 min	-
3	Multiplex LAMP	100%	100%	Yang <i>et al.</i> , 2018	LAMP	<i>Acinetobacter baumannii</i>	18 min	30-60 copies of genome
4	Multiplex LAMP	92.30%	100%	Higgins <i>et al.</i> 2018	RT-PCR	<i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i> and <i>H. influenzae</i>	20 min	-
5	Multiplex RT-LAMP	NA	NA	Fowler <i>et al.</i> 2014	RT-PCR	FMD	less than 10 min	108 copies
6	Multiplex LAMP	97.90%	100%	Mahony <i>et al.</i> 2013		Influenza	within 30 min	10 copies of genome
7	Multiplex RT-LAMP	98.10%	100%	Chi <i>et al.</i> 2017	Real time RT PCR	Influenza	-	10pg /ul
8	Multiplex LAMP	100%	100%	Liu <i>et al.</i> 2017	Multiplex PCR	<i>Salmonella spp.</i> and <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-
9	MERT-LAMP	Same or 10-fold more sensitive	100%	Wang <i>et al.</i> 2015	LAMP and qPCR	Multiple bacteria	12 min	250fg
10	Multiplex LAMP	97%	100%	Nyan and Swinson 2015	Procleix test	Multiple Viruses	-	102 - 50 Viral Particles
11	Multiplex LAMP	100%	100%	Zhong <i>et al.</i> 2019	PCR	colistin-resistant bacteria	-	104 - 105 copies/ul
12	Triplex LAMP	NA	100%	Foo <i>et al.</i> 2017	-	<i>Entamoeba histolytica</i> and non-pathogenic <i>Entamoeba spp.</i>	-	-
13	Multiplex LAMP	NA	100%	Gong <i>et al.</i> 2018	-	Enterobacteriaceae	-	0.5 pg genomic DNA

NA: Not available



PREVENZIONE

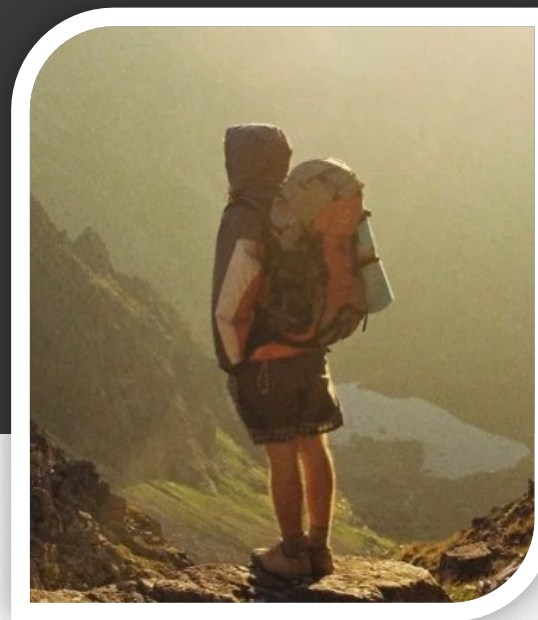
SOGGETTI A RISCHIO



Donne in gravidanza



Bambini



Viaggiatori

PREVENZIONE PRIMARIA

È finalizzata a prevenire direttamente la puntura infettante da parte della zanzara *Anopheles* mediante tecniche che limitino o addirittura impediscano il contatto tra il vettore e l'uomo



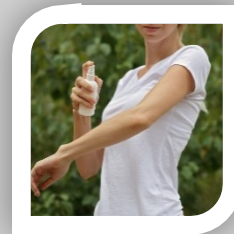
A LIVELLO INDIVIDUALE E COMPORTAMENTALE



1. Utilizzare indumenti di colore chiaro

2. Applicare repellenti cutanei

3. Vaccino (Mosquirix (2021))



A LIVELLO AMBIENTALE



1. Utilizzare zanzariere impregnate di insetticida

2. Aria condizionata

3. Utilizzare insetticidi (DEET, DDT)



DDT

Para-diclorodifeniltricloroetano

È stato il primo pesticida moderno. Venne usato dal **1939** come potente antiparassitario soprattutto per debellare la malaria. Risulta infatti altamente tossico per insetti (mosche, zanzare, pidocchi), aracnidi e piccoli invertebrati in genere, contro i quali agisce per contatto. Poiché tuttavia è scarsamente degradabile e tende ad accumularsi nell'ambiente.

Attualmente è proibito in tutti i paesi occidentali (in Italia dal 1978), mentre in molti paesi africani e asiatici è autorizzato soltanto per combattere il vettore della malaria.



Durante la seconda guerra mondiale, le truppe alleate ne fecero un massiccio utilizzo su civili e militari. La prima volta fu per sconfiggere un focolaio di tifo a Napoli e in seguito fu largamente usato nella provincia di Latina, in Veneto e Sardegna per sconfiggere le zanzare anofele molto diffuse nelle zone paludose.

PREVENZIONE SECONDARIA

FATTORI DA CONSIDERARE

- Condizioni di base del viaggiatore
- Destinazione
- Stagionalità
- Disponibilità di ricorso a strutture sanitarie

	RISCHIO MALARICO	TIPO DI PREVENZIONE
Tipo I	Rischio molto limitato	Protezione contro la puntura di insetti
Tipo II	Rischio di trasmissione malarica da <i>P. vivax</i> o da <i>P. falciparum</i> clorochino-sensibile	Protezione contro la puntura di insetti + chemioprolifassi con cloroquina
Tipo III	Rischio di trasmissione malarica da <i>P. vivax</i> e <i>P. falciparum</i> , associato ad emergente clorochino-resistenza	Protezione contro la puntura d'insetti e profilassi con cloroquina + proguanil
Tipo IV	(1) Alto rischio di trasmissione malarica da <i>P. falciparum</i> , in associazione a casi segnalati di farmaco-resistenza, o (2) Moderato/basso rischio di trasmissione malarica da <i>P. falciparum</i> , ma con elevata farmaco-resistenza	Protezione contro la puntura di insetti + chemioprolifassi con: 1. Meflochina 2. Doxiciclina 3. Atovaquone + proguanil (in base al tipo di farmaco-resistenza)

PREVENZIONE SECONDARIA:



CHEMIOPROFILASSI

I farmaci raccomandati per la profilassi antimalarica sono indicati per singolo paese nella pubblicazione dell'OMS "International Travel and Health"

- Cloroquina → utilizzata per tutti i ceppi di *Plasmodium*
- Doxiciolina → per ceppi clorochinoresistenti di *P. falciparum*
- Atovaquone-proguanil
- Meflochina

Nessun farmaco dà la certezza di prevenire la malattia e le tecniche di prevenzione nei confronti del vettore devono essere applicate durante l'intera permanenza in area endemica.



PREVENZIONE TERZIARIA



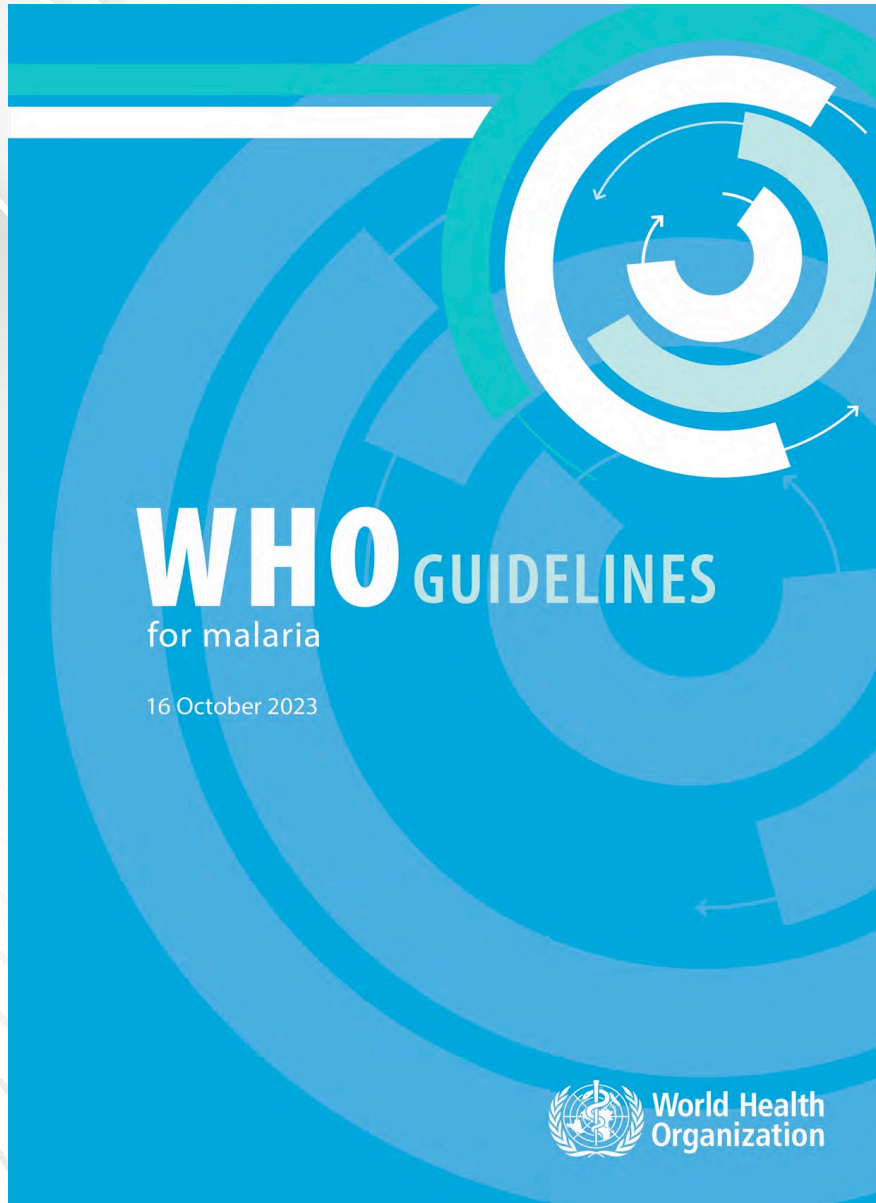
Si basa sull'autotrattamento e deve essere riservata solo ai casi in cui si verificano segni e sintomi fortemente suggestivi di infezione malarica e non sia disponibile un consulto medico tempestivo.

PREVENZIONE PER LA SICUREZZA TRASFUSIONALE



La sicurezza dei prodotti trasfusionali è prioritariamente garantita da un'accurata attività di valutazione anamnestica e selezione clinica del donatore.

- Compilazione di un questionario
- Accertamento dei requisiti fisici
- Esecuzione di test di screening



Oltre al report annuale, in cui vengono elencati i diversi dati epidemiologici, l’OMS pubblica anche una guida, in cui sono descritte le varie ed eventuali nuove strategie preventive, nonché i diversi trattamenti da intraprendere

Alcune scoperte recenti:

Grazie all'utilizzo dell'ingegneria genetica, in particolare alla tecnologia "gene drive", è possibile modificare le zanzare che trasmettono il plasmodio della malaria, appartenenti alla specie *Anopheles gambiae*, in modo tale da far nascere solo gli esemplari maschi, portando così al collasso dell'intera specie.

Article | [Open access](#) | Published: 24 September 2018

A CRISPR–Cas9 gene drive targeting *doublesex* causes complete population suppression in caged *Anopheles gambiae* mosquitoes

[Kyros Kyrou](#), [Andrew M Hammond](#), [Roberto Galizi](#), [Nace Kranjc](#), [Austin Burt](#), [Andrea K Beaghton](#), [Tony Nolan](#) & [Andrea Crisanti](#) 

Article | [Open access](#) | Published: 11 May 2020

A male-biased sex-distorter gene drive for the human malaria vector *Anopheles gambiae*

[Alekos Simoni](#), [Andrew M. Hammond](#), [Andrea K. Beaghton](#), [Roberto Galizi](#), [Chrysanthi Taxiarchi](#), [Kyros Kyrou](#), [Dario Meacci](#), [Matthew Gribble](#), [Giulia Morselli](#), [Austin Burt](#), [Tony Nolan](#) & [Andrea Crisanti](#) 



A seguito della ricercatrice cinese Youyou Tu, premio nobel per la medicina nel 2015, la scoperta che l'artemisinina è in grado di eliminare il plasmodio dal sangue, ha dato il via al Progetto Artemisia, con l'intento di creare delle coltivazioni della pianta in diverse zone africane.

VACCINO

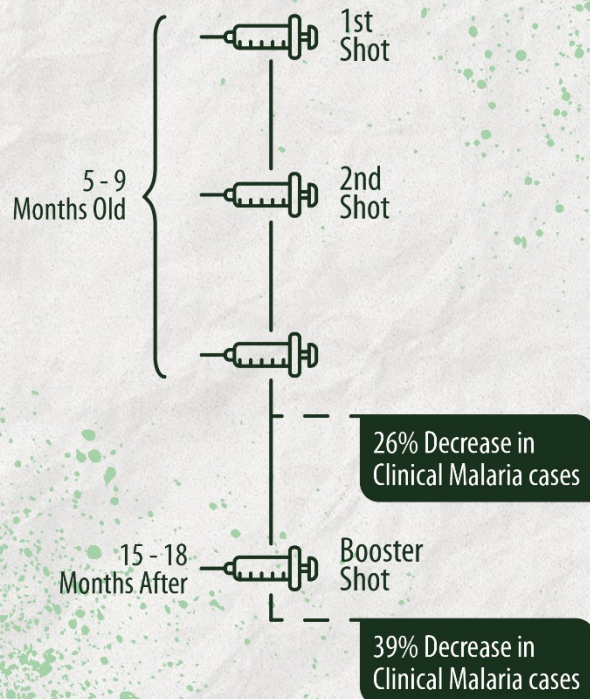


Sono stati sviluppati e sperimentati diversi vaccini anti-malarici nel corso degli anni. In particolare, esistono tre fondamentali categorie di vaccini, in base alla fase del ciclo vitale del plasmodio su cui agiscono:

- vaccini pre-eritrocitari (che hanno come obiettivo il parassita allo stadio di sporozoita);
- vaccini eritrocitari (che hanno come obiettivo i merozoiti);
- vaccini che impediscono la trasmissione (con obiettivo le forme sessuali del parassita)



RTS,S Vaccine Process



Infographic by Marion Tan

RTS,S/AS01 (Mosquirix)

Vaccino a proteine ricombinanti composto dall'antigene RTS,S, presente sulla superficie di *P. falciparum*, fuse all'N-terminale dell'antigene di superficie dell'epatite B e dal sistema adiuvante AS01. questo vaccino può aiutare anche nella prevenzione dell'epatite B, benché non possa essere usato esclusivamente per questo scopo.

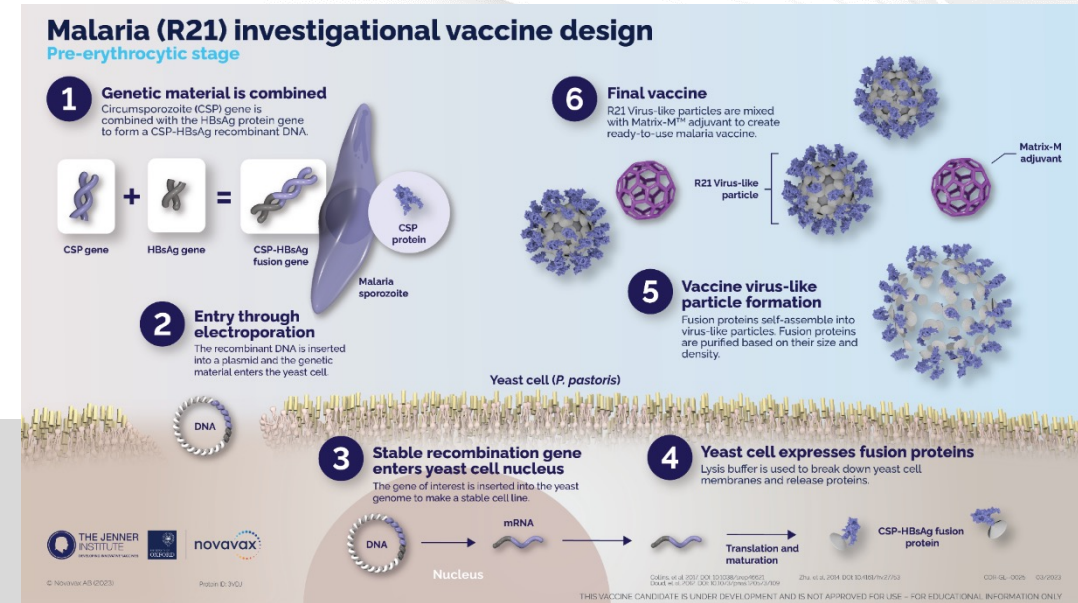
- Approvato dall'OMS il 6 ottobre 2021
- Somministrazione in 4 dosi
- Efficacia del 30% tra neonati tra le 6 e 12 settimane
- Efficacia del 50% nei bambini tra 5 e 17 mesi

VACCINO R21/Matrix-M

Nell'Ottobre 2023 l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha aggiunto un secondo vaccino contro la malaria - R21/Matrix-M sviluppato dall'Università di Oxford - all'elenco dei vaccini prequalificati per ampliare l'accesso alla prevenzione della malaria attraverso la vaccinazione.

- Somministrazione in 3 dosi + una dose booster dopo un anno
- Efficacia superiore al 70% per bambini tra i 5 e 36 mesi

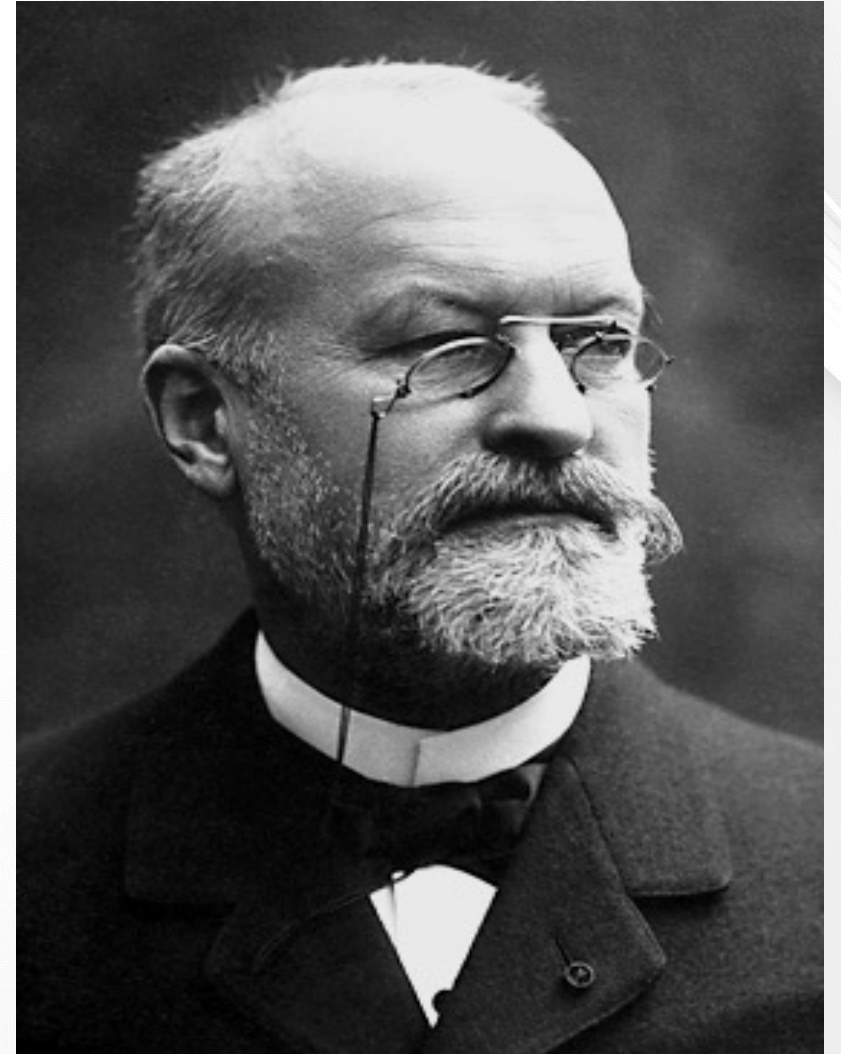
Come RTS,S, il vaccino contiene una proteina del parassita (circumsporozoite) e una proteina trasportatrice derivata dal virus dell'epatite B. Tuttavia, l'adiuvante utilizzato, il Matrix -M, è molto più efficiente. Esso migliora la risposta del sistema immunitario, rendendolo più potente e durevole. Inoltre stimola l'ingresso di cellule presentanti l'antigene nel sito di iniezione e migliora la presentazione dell'antigene nei linfonodi locali.



Plasmodium falciparum

Il *Plasmodium falciparum* è un protozoo parassita unicellulare ed è la specie più pericolosa per l'infezione da malaria, avendo il tasso più elevato di complicanze e di mortalità. L'etimologia del nome «*falciparum*» deriva dal latino «*falx*» che significa «forma di falce» e la dicitura «*parum*» che significa «nascite». Venne scoperto da Charles Laveran il 6 novembre 1880 in un ospedale militare a Costantina (Algeria).

Ettore Marchiafava e Angelo Celli, due scienziati italiani, approfondirono le osservazioni di Laveran, descrivendo gli stadi di sviluppo del parassita nell'uomo e furono proprio loro a dare il nome di *Plasmodium falciparum* al protozoo.



Caratteristiche strutturali

Plasmodium falciparum nel ciclo eritrocitario subisce ben quattro stadi di sviluppo:

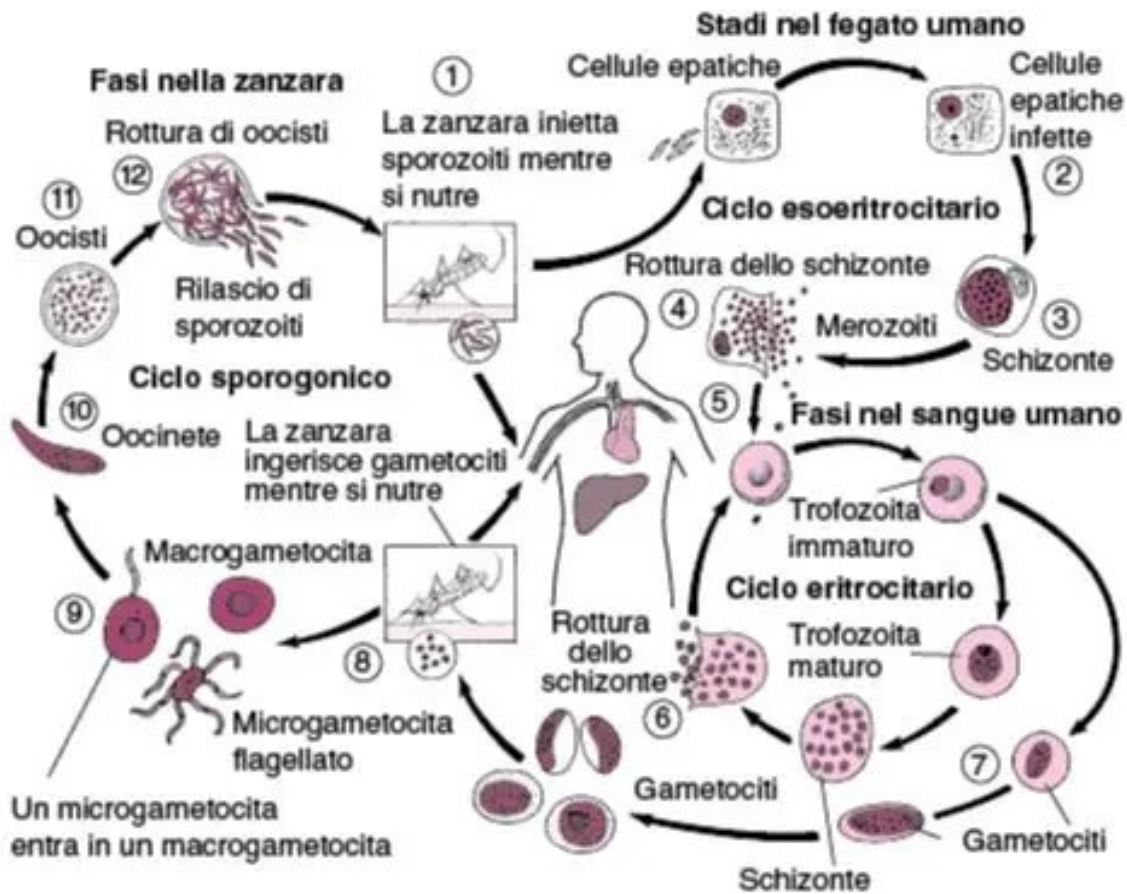
- La fase ad anello in cui il globulo rosso assume la forma proprio di un anello ed è più piccolo rispetto alle altre specie. Questa fase dura 12 ore e il parassita occupa 1/3 del volume totale dell'eritrocita. Il protoplasma all'estremità del nucleo è più spesso e blu, mentre il nucleo è rosso.
- Fase trofozoita, in cui il parassita cresce, si estende nel globulo rosso, assumendo una forma più regolare. Il nucleo è grande, pigmento di melanina abbondante e uniformemente diffuso.
- Schizonte, che è raramente osservabile, e indica la presenza di un'infestazione più acuta. Il nucleo si divide in 2,3,4 e 6 nuclei.
- Fase a rosetta, dove i nuclei sono divisi al massimo e possiamo notare la divisione del protoplasma, con conseguenti merozoiti con diametro 40-80µm che si posizionano alla periferia del parassita, dando alla rosetta un aspetto multiforme. La durata della fase pre-rosetta e rosetta è di 8 ore e dell'intero ciclo è di 48 ore
- Gametocita, nel quale sono forme molto grandi con un nucleo composto da una grossa massa di cromatina più o meno compatta, di forma tondeggiante o allungata. Sono molto evidenti i granuli di pigmento.



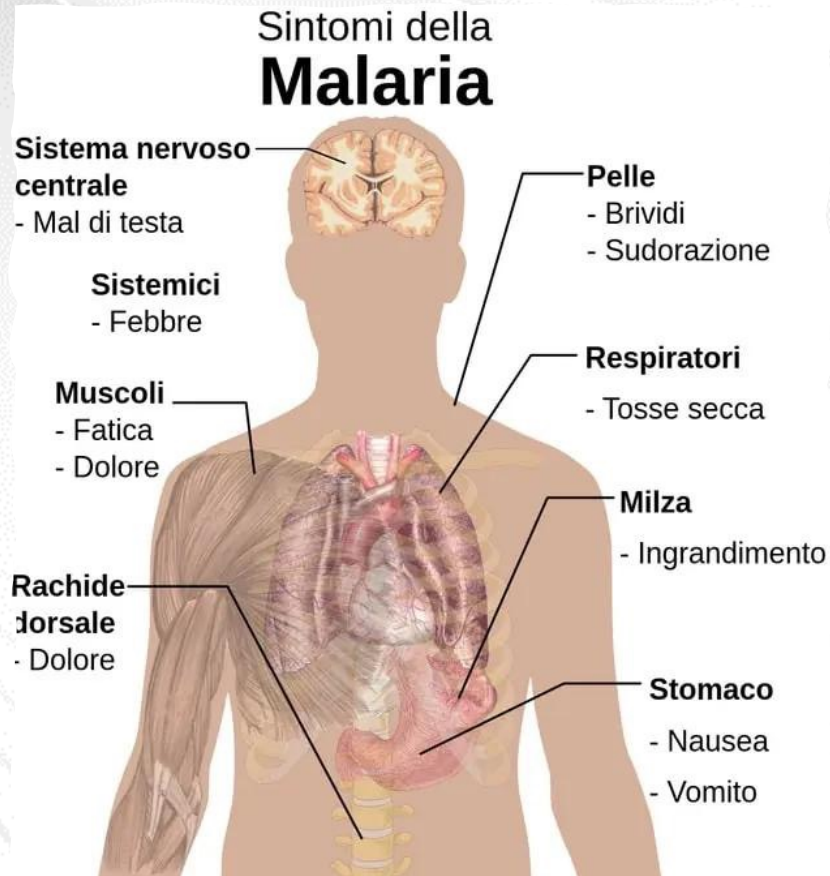
Ciclo Vitale

Il *Plasmodium falciparum* presenta un ciclo complesso, che si suddivide in:

- Ciclo asessuato (schizogonico), che inizia con la puntura dell'insetto vettore che inocula gli sporozoitii nell'individuo. Gli sporozoitii entrano all'interno dell'epatocita dove il plasmodio si accrescerà per schizogonia, portando alla formazione dei schizonti con tempi di maturazione compresi tra 5-11 giorni, dai quali usciranno i merozoiti che riconosceranno i globuli rossi e ci sarà la crescita del plasmodio.
- Ciclo sessuato (sporogonico), dove i macrogametociti formatosi nell'individuo infetto e succhiati dalla zanzara portano alla formazione dei microgametociti per esfoliazione; Questi migrano nell'intestino dell'insetto per formare ovociti ovoidi. L'ovocita produce migliaia di sporozoitii, che alla fine infettano le ghiandole salivari e viene infettato l'ospite vertebrato.



Sintomatologia



Inizialmente *Plasmodium falciparum* può presentarsi con attacchi di febbre e brividi intensi (parossismo malarico), che coincide con il rilascio di merozoiti per la rottura dei globuli rossi. La febbre malarica si divide in quartane o terzane e iniziano con malessere, brivido e febbre che sale a 39-41°C.

Altri sintomi sono:

- Anemia
- Ittero
- Splenomegalia

La Splenomegalia (ingrossamento della milza) può anche non verificarsi con *Plasmodium falciparum*. Tuttavia le complicazioni possono essere maggiori con questo tipo di plasmodio, perché i globuli rossi aderiscono alle cellule endoteliali vascolari, generando ischemia, e conseguente ipossia tissutale a livello cerebrale, renale, polmonare e del tratto gastrointestinale.

Terapia e Prevenzione

La terapia per *Plasmodium falciparum* prevede la somministrazione di:

- Atovaquone/proguanil
- Chinina solfato più Doxicilina, Tetraciclina, Clindamicina oppure Meflochina se le altre non possono essere utilizzate
- Idrossiclorochina
- Clorochina fosfato

Alcuni di questi farmaci sono utilizzati per la prevenzione, nel caso di un viaggio in una zona endemica. Altre forme di prevenzione prevedono la lotta all'insetto vettore e la ricerca dei vaccini.



Metodi di identificazione

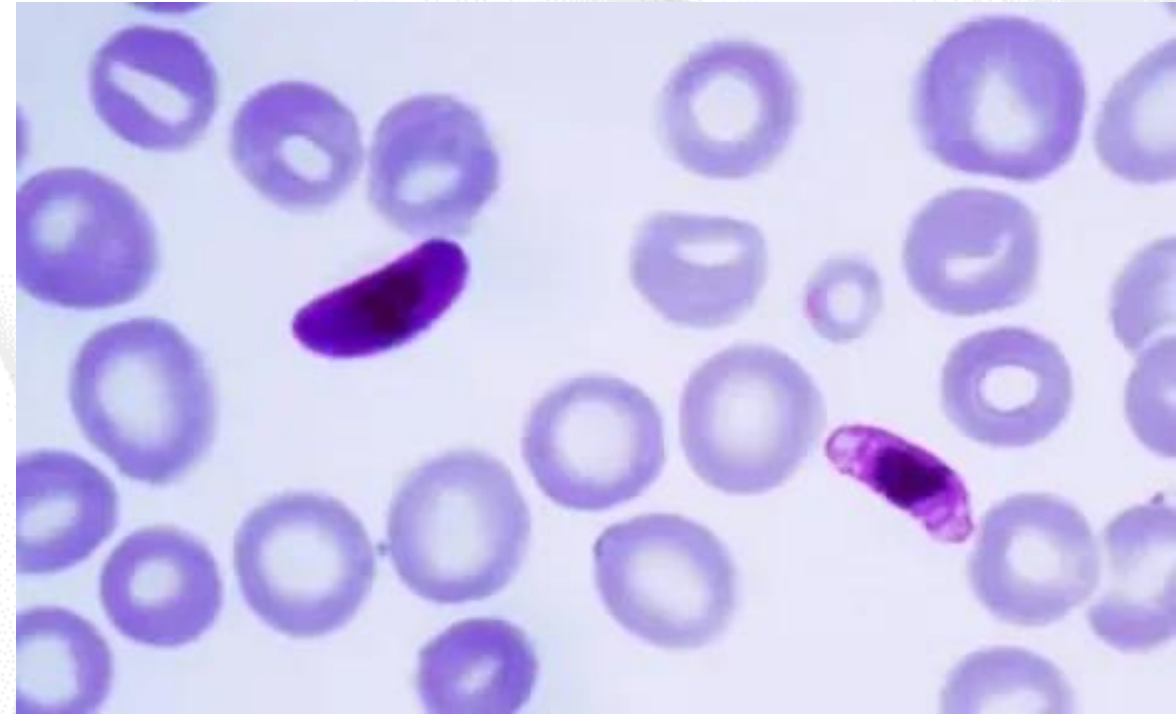
La diagnosi di *Plasmodium falciparum* può essere effettuata attraverso l'uso di:

- Microscopia ottica dello striscio di sangue
- Test diagnostici rapidi in grado di rilevare enzimi del *Plasmodium falciparum* nel sangue.

Lo striscio di sangue con colorazione di Wright-Giemsa del *Plasmodium falciparum* presenta alcune caratteristiche:

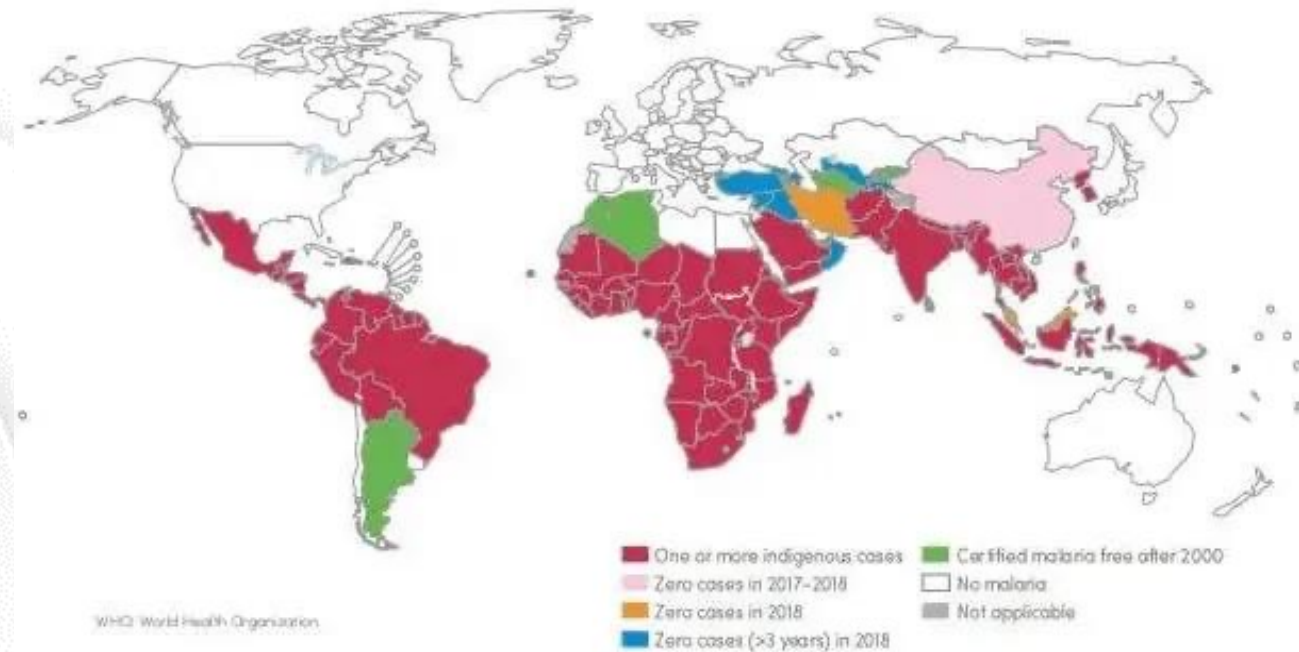
- Non c'è aumento del volume dei globuli rossi
- Globuli rossi con infestazioni multiple
- Presenza di anelli
- Gametociti a semiluna
- 12 merozoiti per schizonte
- Presenza di granulazione di Mauer

I test diagnostici che individuano il parassita comprendono la PCR, il rilevamento di una proteina ricca di istidina e l'individuazione della lattato deidrogenasi.



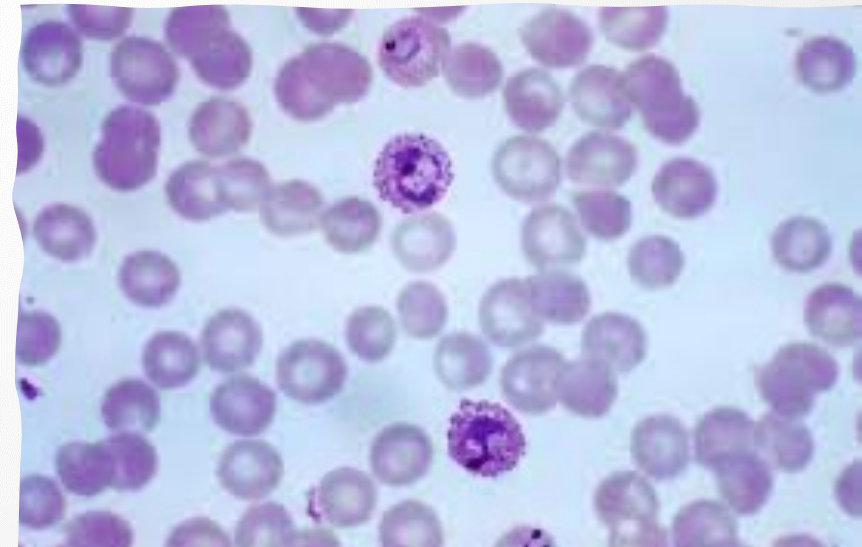
Epidemiologia

Nel 2018 Plasmodium falciparum è stato responsabile del 99,7% dei casi di malaria nella regione africana, 50% nella regione del sud-est asiatico, 71% nella regione orientale del mediterraneo e 65% nella regione del pacifico occidentale. Il gruppo di bambini al di sotto dei cinque anni è stato quello più vulnerabile, nel 2018 hanno rappresentato il 67% dei morti in tutto il mondo.



Plasmodium vivax

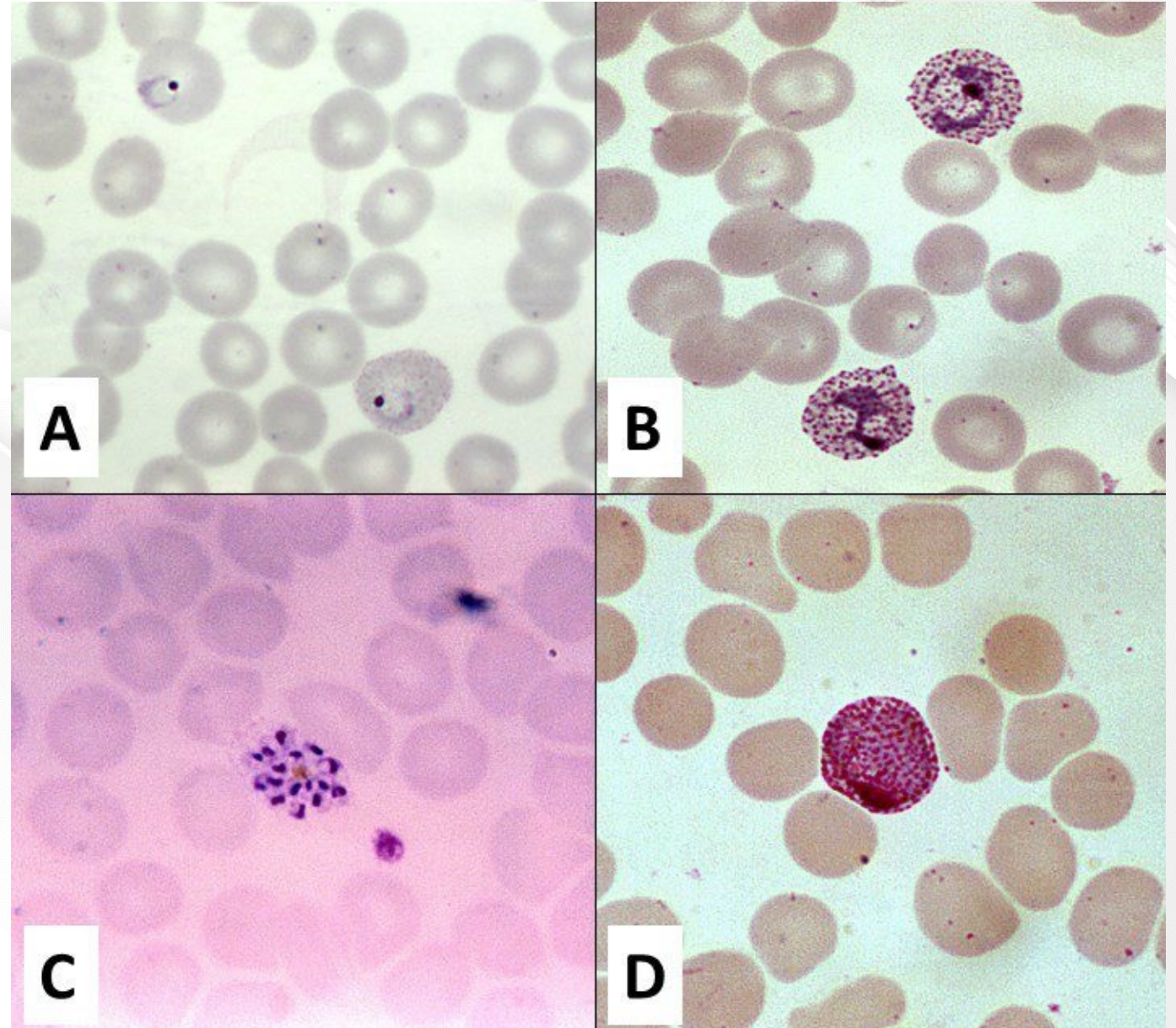
Il *Plasmodium vivax* è il più frequente e diffuso, nonché il responsabile di malaria più ricorrente. La dicitura "vivax" deriva dal fatto che i trofozoiti sono caratterizzati da movimenti rapidi. Venne scoperto nel 1885 da **Camillo Golgi**, egli dimostrò l'associazione tra periodicità delle febbri malariche e il ciclo del plasmodio. Riuscì a provare come i due diversi tipi di febbre malarica, la terzana e la quartana, fossero provocati da due distinte specie di plasmodio: *Plasmodium vivax*, (responsabile della terzana benigna) e *Plasmodium malariae*, (responsabile della quartana).



MORFOLOGIA STRUTTURALE

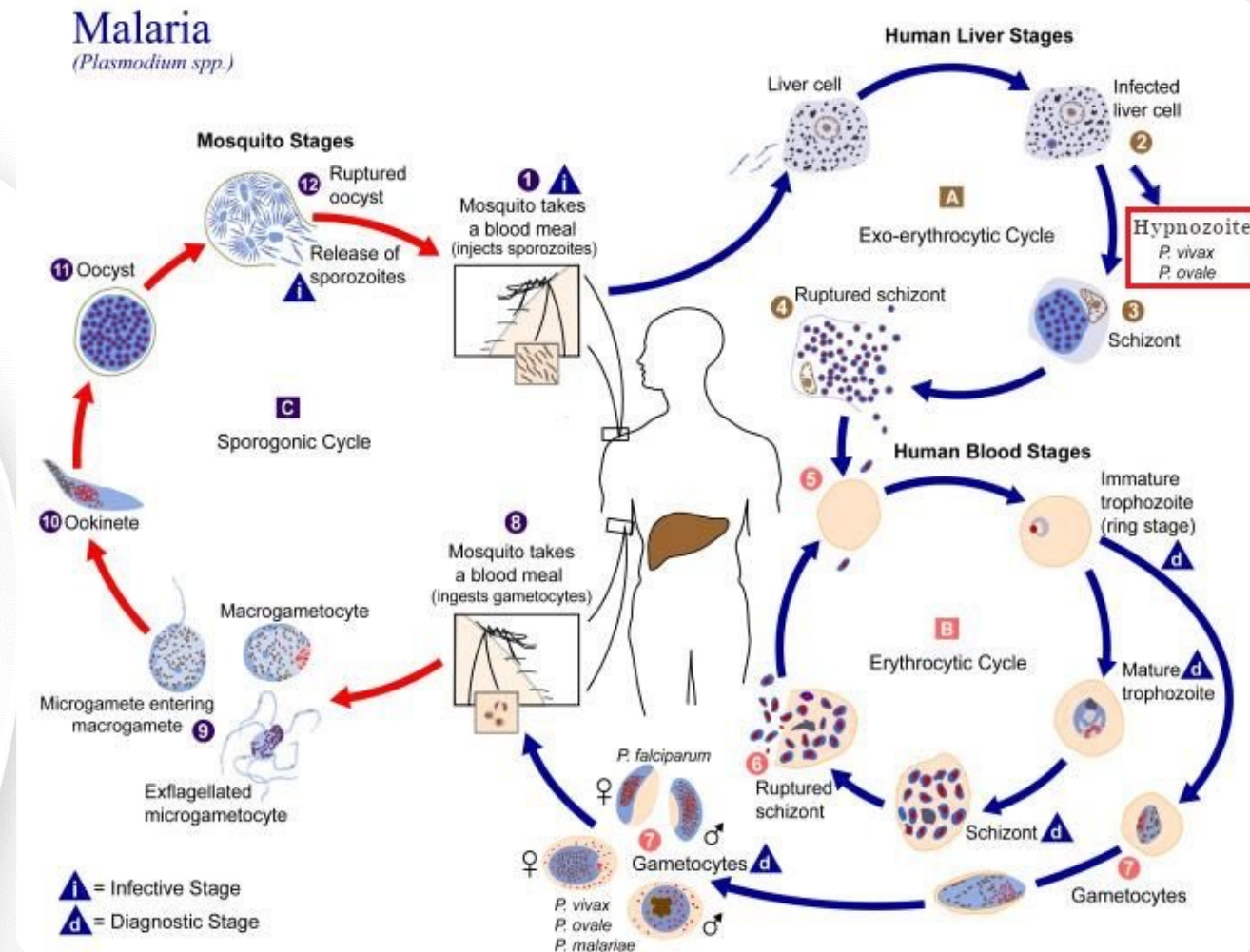
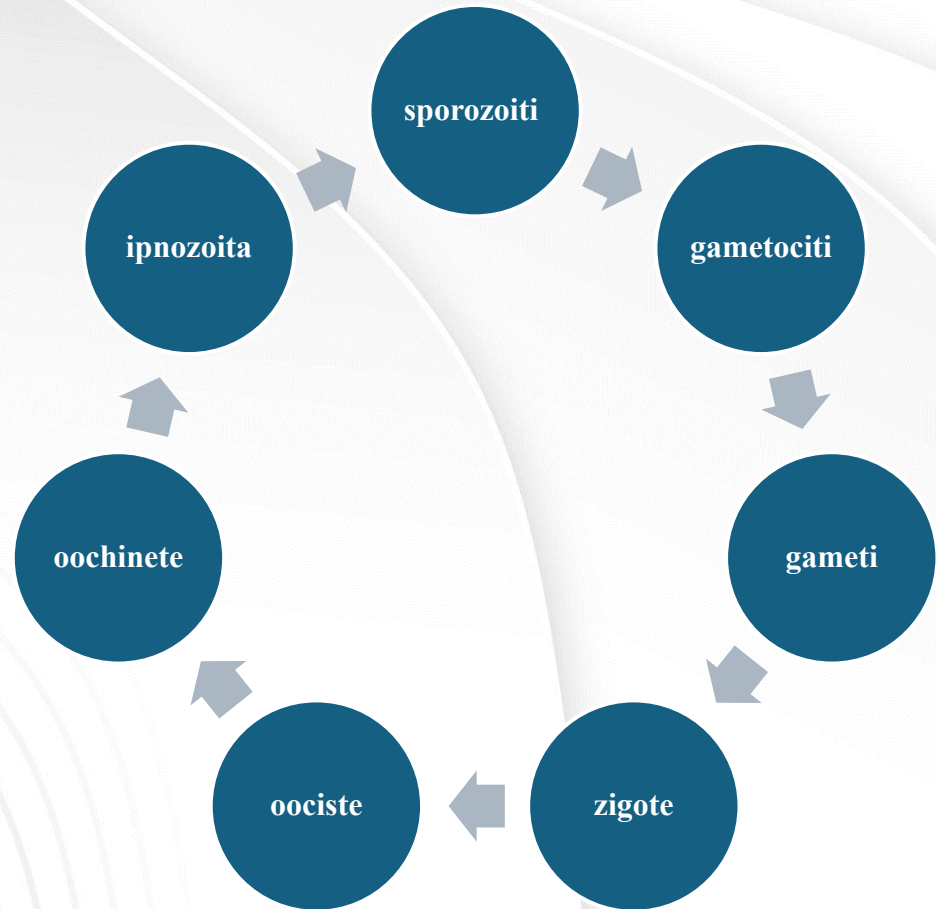
Il *Plasmodium vivax* attraversa quattro stadi di sviluppo nel ciclo eritrocitario nell'uomo. Questi sono:

- L'**anello** (figura A), con un grosso nucleo, mostra un citoplasma che tende ad apparire frammentato durante la maturazione.
- Il **trofozoita** (figura B), quando è maturo mostra un citoplasma ameboide. Inoltre, sulla superficie dell'eritrocita possono comparire granulazioni (chiamate granulazioni di Shuffner).
- Lo **schizonte** (figura C), contiene da 12 a 24 merozoiti e mostra un pigmento malarico concentrato.
- Il **gametocita** (figura D), di forma tondeggiante, occupa solitamente l'intero volume dell'eritrocita. Nei gametociti il pigmento malarico è diffuso.



CICLO VITALE

Il *Plasmodium vivax* si moltiplica asexualmente (ciclo “**schizogonico**”) nell’uomo e sessualmente (ciclo “**sporogonico**”) nella zanzara.



SINTOMATOLOGIA

P. Vivax inizialmente si presenta come *P. Falciparum*, con attacchi febbrili irregolari, questi sono poi seguiti da sudorazioni sparse e scomparsa dello stato febbrile. Si può avere splenomegalia (ingrossamento della milza) e raramente rottura splenica.

Dopo qualche attacco si esaurisce, ma può avere ricadute per la persistenza degli ipnozoiti. Allora compare la febbre terzana benigna (che consta di attacchi febbrili ogni 48ore). Se i ceppi sono due e hanno un ritmo sfasato si può avere una doppia terzana, che è quotidiana. I picchi di febbre sono provocati dalla rottura dei globuli rossi e il conseguente rilascio dei parassiti e dei loro cataboliti.

I sintomi della malaria solitamente includono mal di testa, mialgie, diarrea, vomito, eccessiva sudorazione e brividi e febbre terzana. Tuttavia, in alcuni casi sono state riportate complicazioni tra cui la sindrome da distress respiratorio (Ards), l'edema polmonare e la disfunzione multiorgano.

METODI DI IDENTIFICAZIONE

La diagnosi si basa prevalentemente sull'osservazione microscopica del parassita in strisci di sangue sottili o a goccia spessa, colorati con il metodo di Wright-Giemsa.

Le caratteristiche diagnostiche più importanti del *Plasmodium vivax* sono:

- Gli eritrociti infetti, che sono spesso più grandi rispetto agli altri.
- Le infezioni multiple, che sono rare.
- Il citoplasma dei trofozoiti, che è ameboide.
- La presenza delle granulazioni di Shuffner.
- Gli schizonti, che sono comuni nel sangue periferico.
- I gametociti, che sono tondeggianti.

Alternativamente, la diagnosi di *Plasmodium vivax* può essere raggiunta con:

- I test immunocromatografici rapidi per rilevare gli antigeni.
- La diagnosi tramite PCR.
- I test sierologici (che rilevano solo l'esposizione pregressa al parassita ma non consentono di diagnosticare un'infezione in corso).

TERAPIA

I trattamenti vanno distinti a seconda della gravità dell'infezione e della presenza di parassiti cloroquina-resistenti. Le infezioni non complicate possono essere trattate con:

- Chinina solfato con doxiciclina o tetraciclina, o atovaquone/proguanil.
- Cloroquina/idrossicloroquina solfato.

Per le infezioni gravi è necessario l'uso di artesunato EV, seguito da uno dei seguenti: artemetere/lumefantrina, atovaquone/proguanil, doxiciclina, o clindamicina (nelle donne in gravidanza).

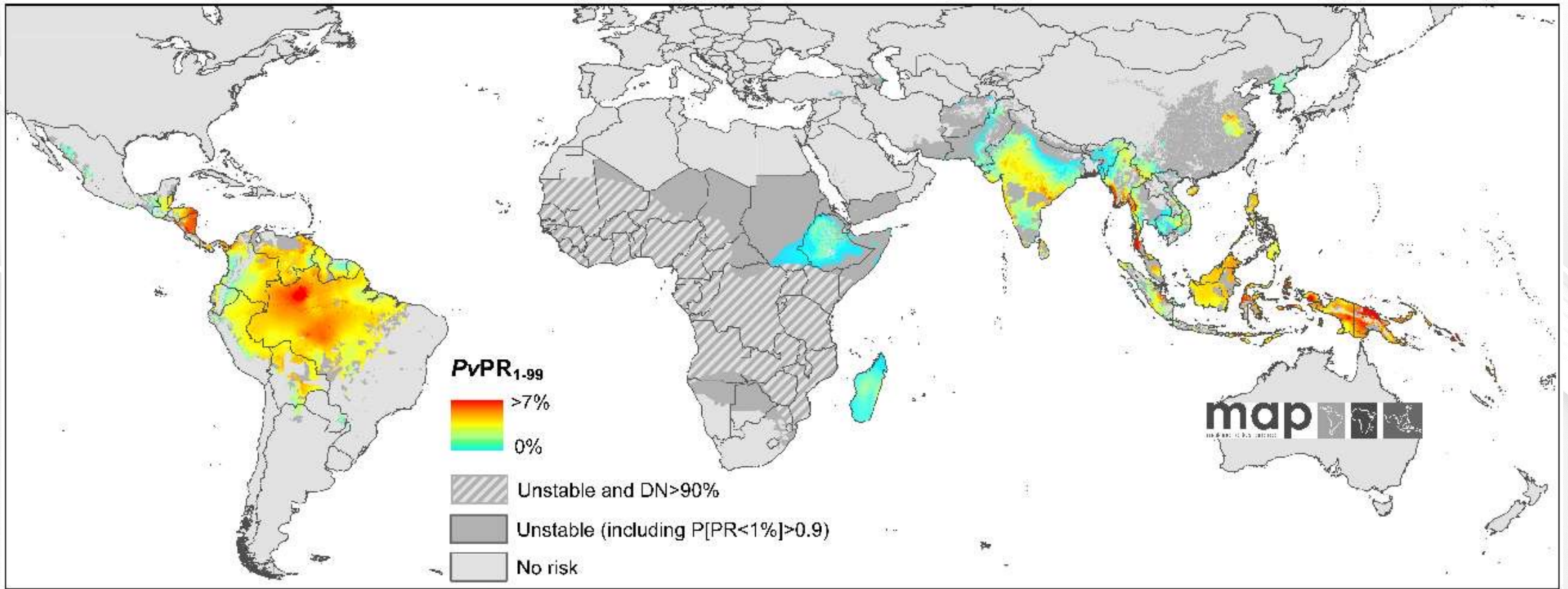
Infine, l'uso di primachina o tafenoquina è necessario per debellare gli ipnozoiti nel fegato.



PREVENZIONE

La prevenzione per i viaggiatori in aree endemiche si basa sulla protezione dai morsi delle zanzare *Anopheles* (uso di zanzariere e repellenti) e sulla chemioprolifassi. La scelta dei farmaci da usare nella chemioprolifassi dipende in larga parte dal tipo di viaggio, dal tempo di permanenza e dal Paese visitato.





P. vivax è presente in modo molto più diffuso e si stima che 2,85 miliardi di persone siano infettate. La malaria *vivax* è presente in alcune parti dell'India, i tassi di prevalenza sono elevati anche in aree urbane, a dispetto del fatto che solitamente si ritenga che questa malattia endemica sia presente solo nelle zone rurali. Alti tassi di infezione si registrano anche in Papua Nuova Guinea e in parti significative di Indonesia e Myanmar. In America del sud, l'area di maggiore preoccupazione è la regione, del nord del bacino Rio delle Amazzoni, ma sono interessate anche parti di Perù, Colombia e Venezuela. In America centrale, le regioni più a rischio sono Nicaragua e parti di Honduras e Guatemala. In Africa, invece, i tassi di infezione di *P. vivax* sembrano essere relativamente bassi, ma è principalmente presente in alcune parti del Corno d'Africa e in tutto il Madagascar.

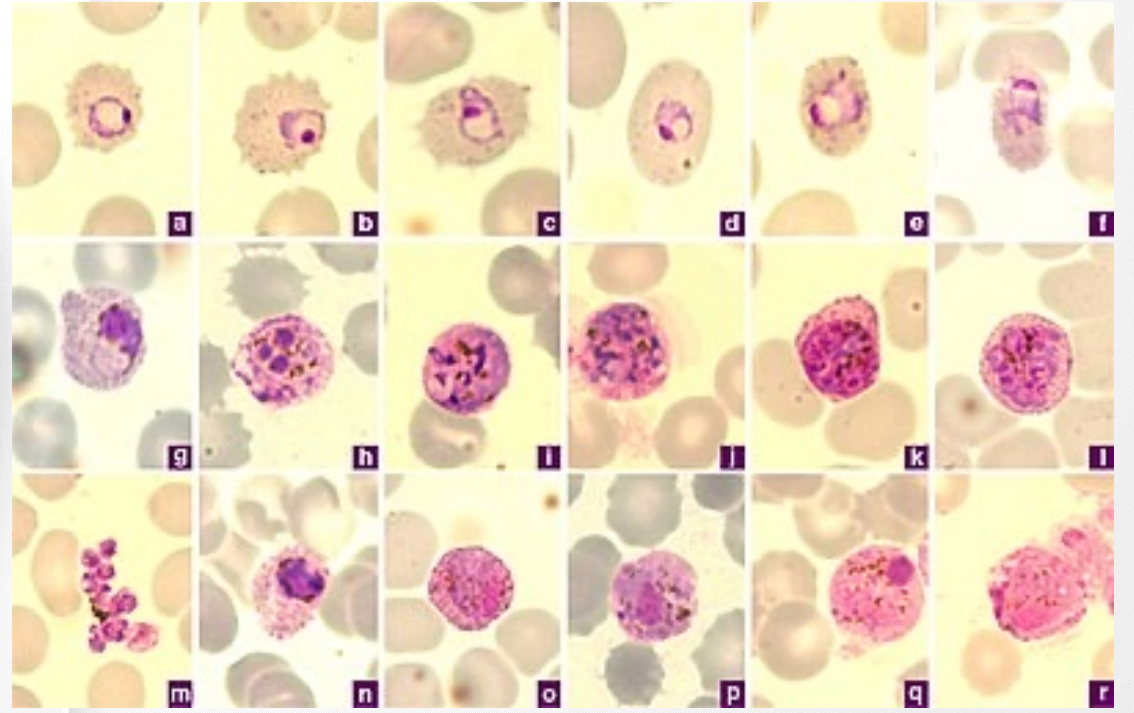
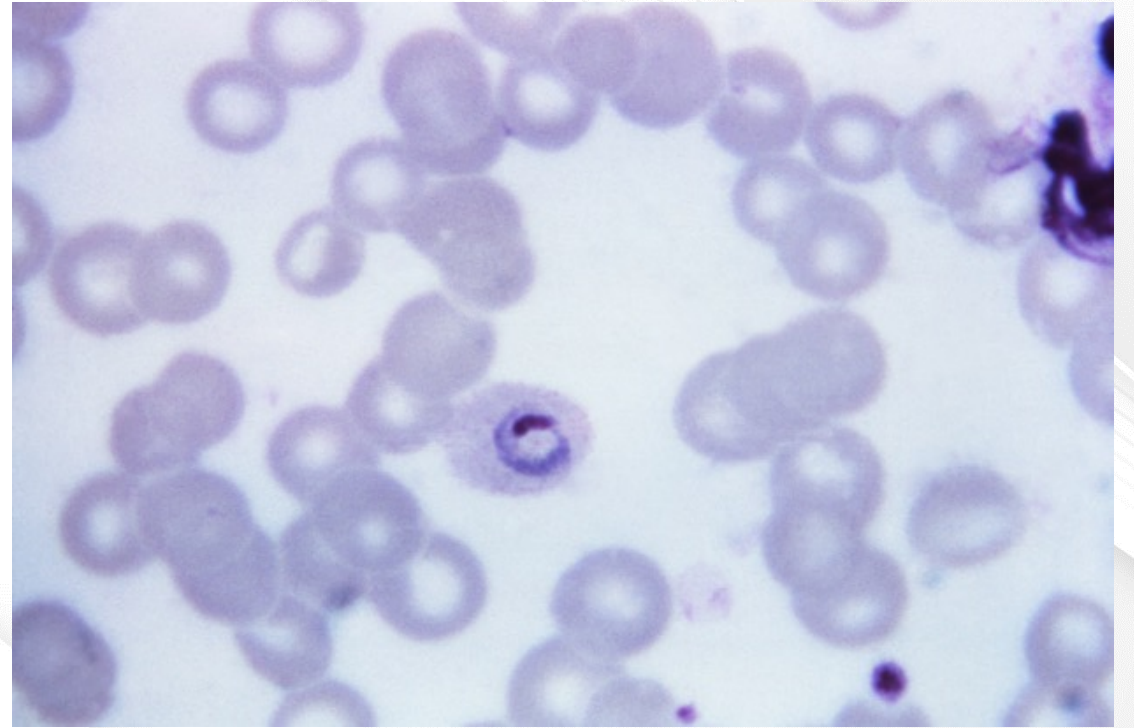
Plasmodium ovale

Il *Plasmodium ovale* è stato uno degli ultimi *Plasmodium* ad essere scoperto.

P. ovale è più raro rispetto agli altri parassiti e sostanzialmente meno pericoloso.



Nel 1922, John William Watson Stephens pubblicò una descrizione completa del parassita e lo chiamò *P. ovale* in riconoscimento della forma ovale di alcuni degli eritrociti infetti.

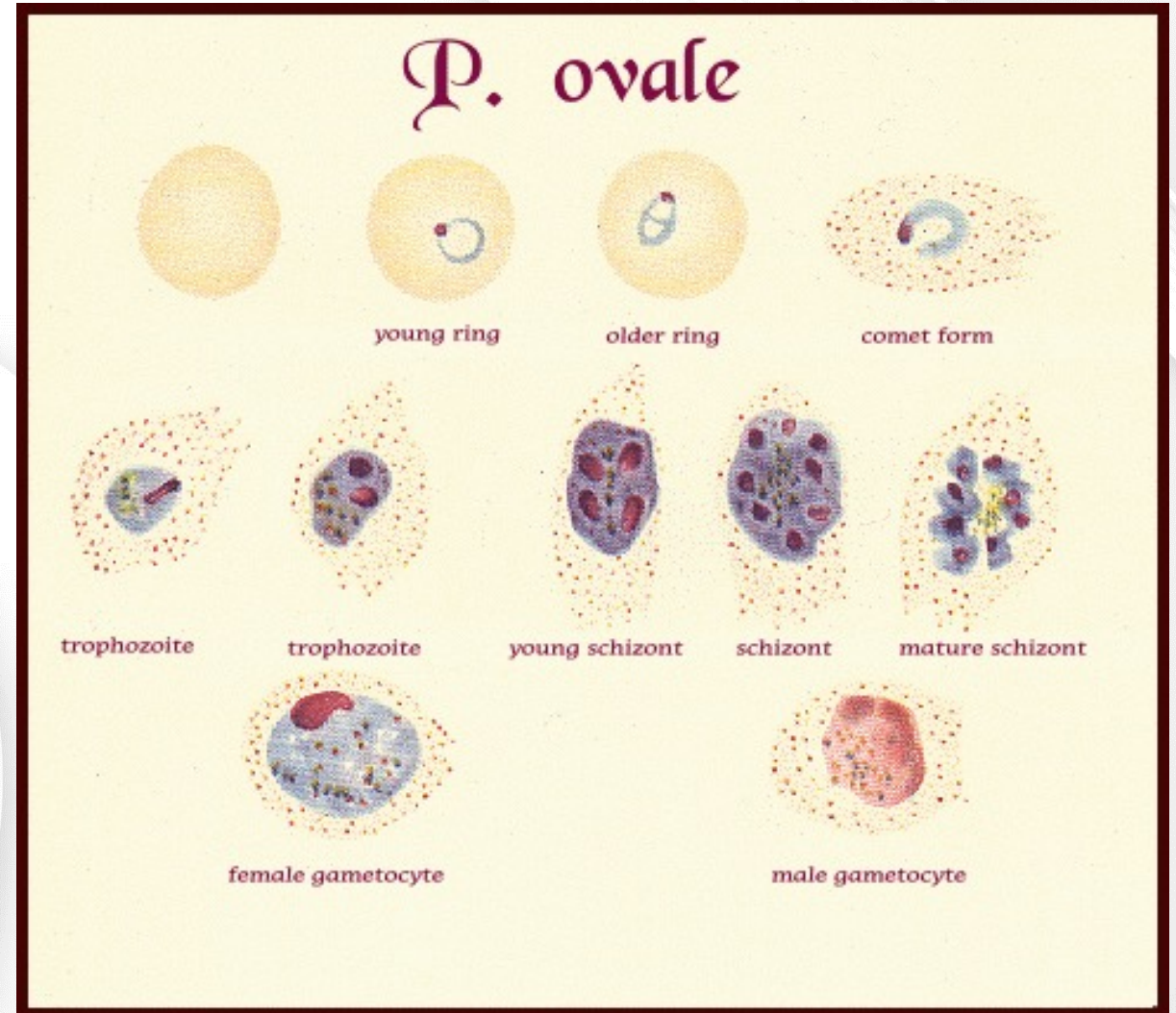


Caratteristiche generali

Il *P. ovale* ha molte caratteristiche comuni con il *P. vivax*; infatti è difficile fare una chiara distinzione tra i due durante una diagnosi.

MORFOLOGIA

- Gli anelli, con un grosso nucleo, hanno un citoplasma compatto.
- I trofozoiti hanno un citoplasma compatto o leggermente irregolare, e le granulazioni di Shuffner possono apparire sulla superficie dell'eritrocita (come in *P. vivax*).
- Gli schizonti e i gametociti presentano le stesse caratteristiche di quelli di *P. vivax*.



Caratteristiche generali

DIAGNOSI

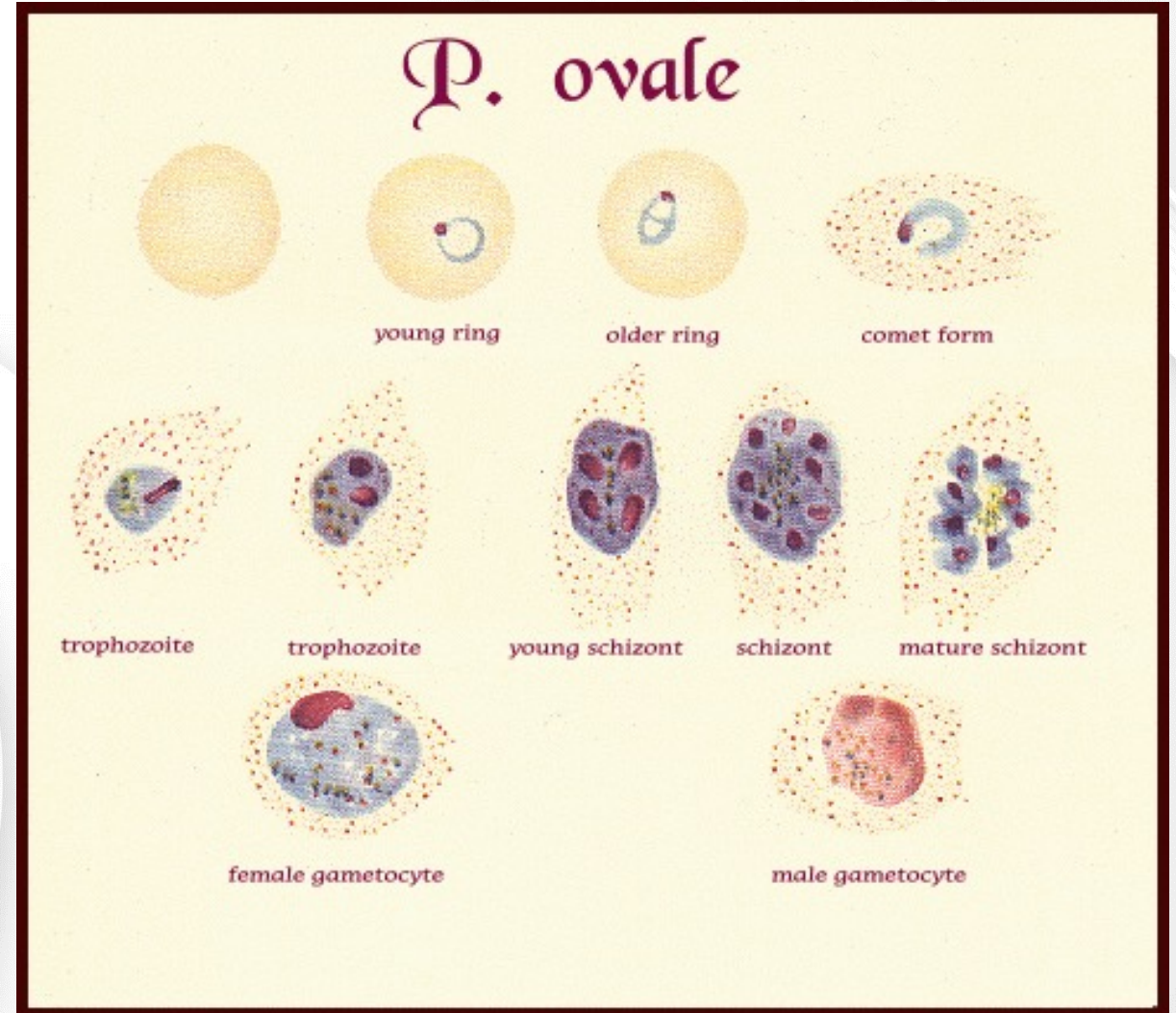
- esame delle pellicole di sangue periferico colorate con colorazione di Giemsa
- PCR

DATI EPIDEMIOLOGICI

- Incidenza <5%
- Maggiore presenza nell'Africa sub-sahariana e nelle isole del Pacifico occidentale.

RECIDIVITÀ




- Presenza di ipnozoiti, forme dormienti presenti nel fegato che ricompaiono solitamente dopo 4-5 anni.



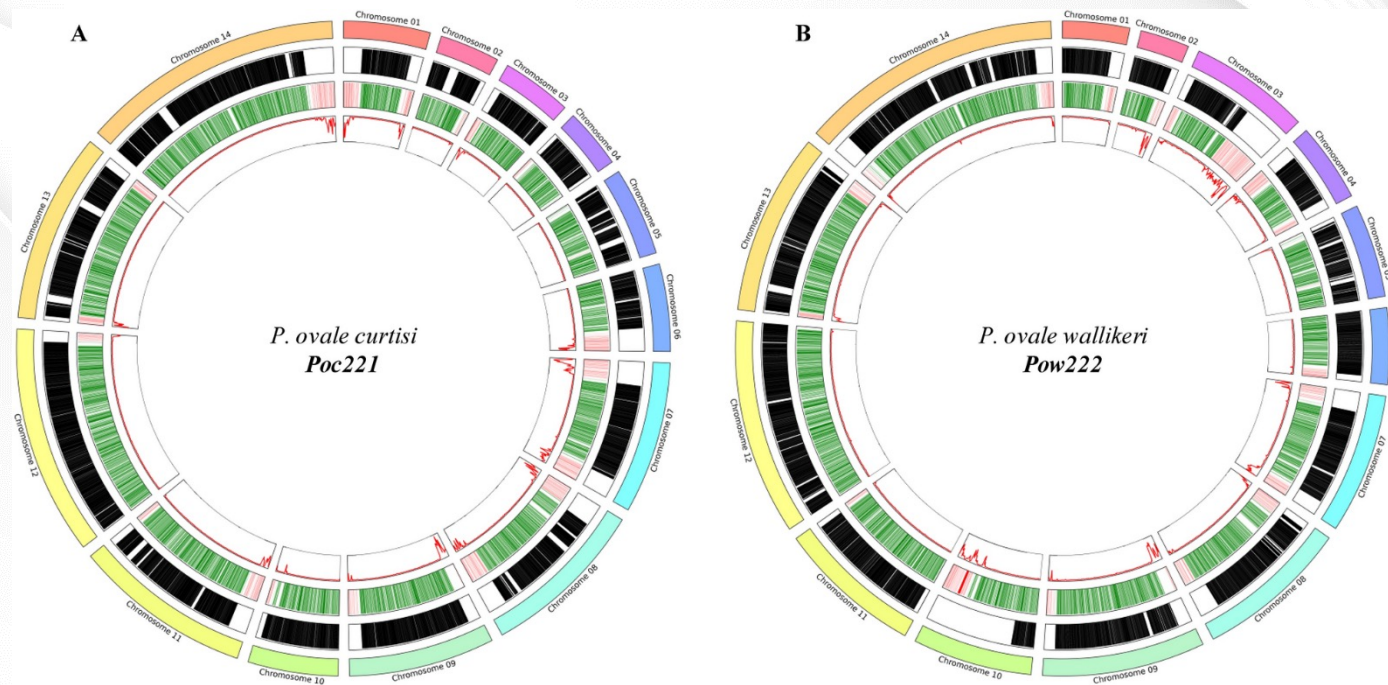
Il metodo PCR ha ampliato la ricerca sulla malaria da *P. ovale*. In particolare, ha permesso la scoperta di due specie simpatriche, ovvero *P. ovale curtisi* e *P. ovale wallikeri*. Tuttavia, la quantità di dati e informazioni sulle due specie sono molto scarsi, a causa del fatto che, essendo morfologicamente identici, è molto difficile distinguerli.

Article | [Open access](#) | Published: 15 February 2024

New reference genomes to distinguish the sympatric malaria parasites, *Plasmodium ovale curtisi* and *Plasmodium ovale wallikeri*

[Matthew Higgins](#), [Emilia Manko](#), [Daniel Ward](#), [Jody E. Phelan](#), [Debbie Nolder](#), [Colin J. Sutherland](#) , [Taane G. Clark](#)  & [Susana Campino](#) 

Species	<i>P. ovale curtisi</i> (Poc)		<i>P. ovale wallikeri</i> (Pow)	
	Poc221 (S. Sudan)	PocGH01 (Ghana)	Pow222 (Nigeria)	PowCR01 (Ghana)
Reference				
Genes	7557	6811	7182	6499
Protein Coding	7440	6671	7063	6395
Non-coding	117	140	119	104
tRNA	68	68	75	58
rRNA	10	37	11	17
snRNA	5	5	5	6
snoRNA	23	21	21	23
ncRNA	11	9	7	0
Pseudogenes	407	500	479	728
Multi-gene families				
PIR genes	1955	1493	1606	1338
STP1 genes	88	67	97	100
BUSCO Completeness (%)	96.2	95.9	95.7	95.3



Plasmodium malariae

Plasmodium malariae rappresenta uno dei cinque parassiti di *Plasmodium* che causano la malaria. Venne scoperto da Camillo Golgi nel 1885 come causa della *quartana*. Questo parassita, è responsabile di una forma meno comune e meno grave di malaria rispetto a quella causata da *Plasmodium falciparum*.

Plasmodium malariae è un parassita malarico con caratteristiche uniche e un ciclo di vita che gli permette di persistere nell'ospite umano per lungo tempo. Nonostante la sua minore virulenza rispetto ad altre specie di *Plasmodium*, la sua capacità di causare infezioni croniche lo rende un interessante oggetto di studio per comprendere meglio la malaria e le dinamiche di infezione a lungo termine.

Durante il suo ciclo vitale *P. malariae* si sviluppa in diverse forme. Generando prima emazie con forma ad anello, per poi formare trofozoiti, schizonti e gametociti







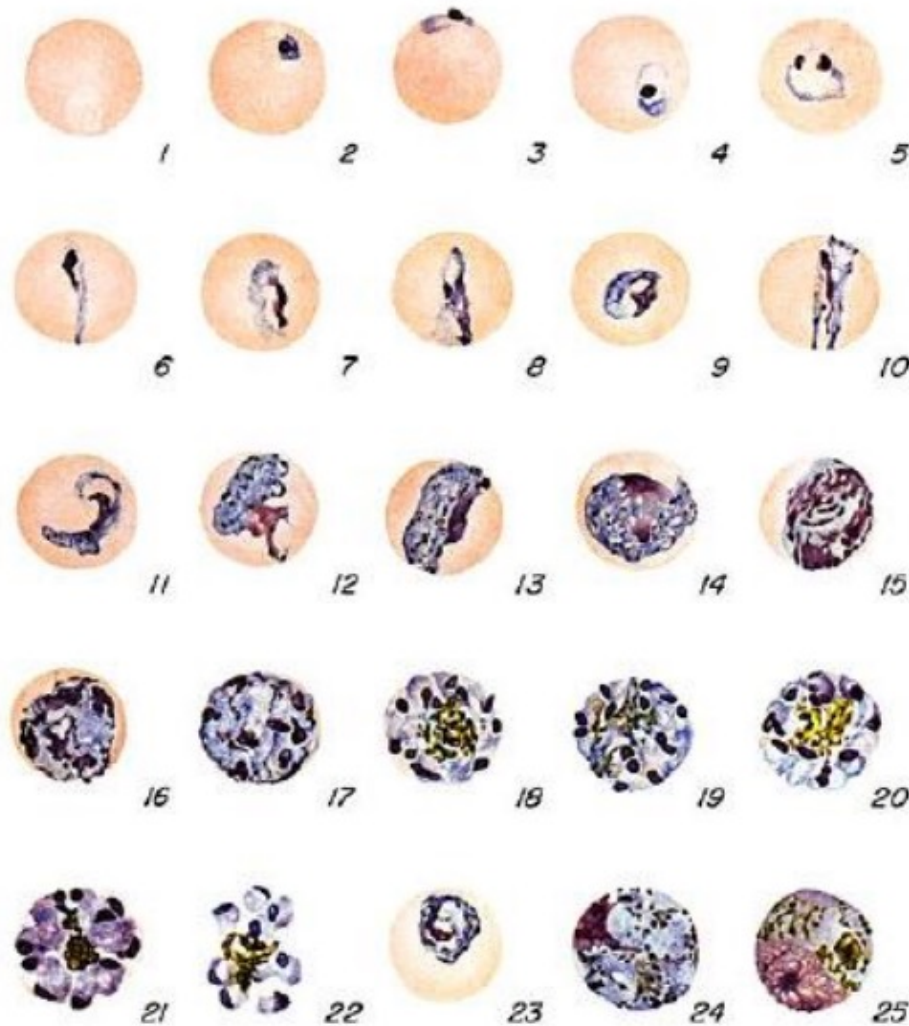
Stages Species	Ring Stage	Trophozoite	Schizont	Gametocyte
P.Malariae				

Figure 1. Four Plasmodium species during four phases of development (Fatima & Farid, 2020)

Evoluzione di P. malariae all'interno degli eritrociti



1 : Emazia normale;

2 - 5: Trofozoiti giovani (forme ad anello);

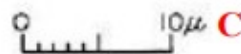
6-13: Trofozoiti maturi;

14 -22 : Schizonti;

23: Gametocita immaturo

24 : Macrogametociti (femminili);

25: Microgametociti (maschili).



PLASMODIUM MALARIAE

L. H. Nicholson

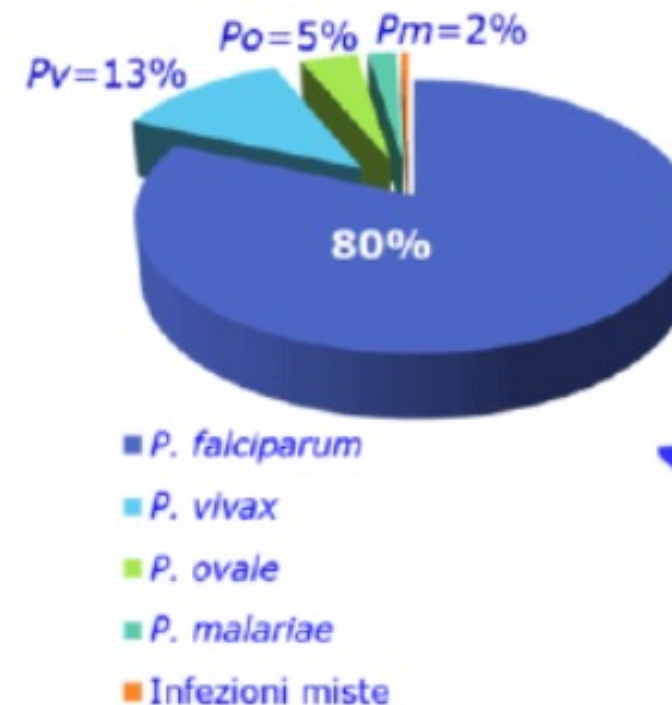
Diffusione del Plasmodium malariae

La malaria da *P. malariae* è la forma meno grave di malaria ed infetta gli eritrociti più vecchi e contribuisce fino al 10% delle infezioni da malaria nell'Africa sub-sahariana.

La diffusione del *P. malariae* è generalmente disposta in Africa centrale ed orientale, nelle isole dell'Oceano Indiano e nel Sudest Asiatico

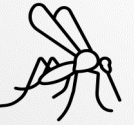
Ricercatori hanno condotto studi longitudinali per monitorare le infezioni da *P. malariae* nel tempo, evidenziando che la presenza del parassita può essere rilevata in individui asintomatici per lunghi periodi, contribuendo alla trasmissione continua della malaria nella popolazione.

A livello globale, il *Plasmodium malariae* rappresenta il parassita meno diffuso al mondo con solo il 2.6% dei casi totali secondo l'ultimo World Malaria Report del 2020.



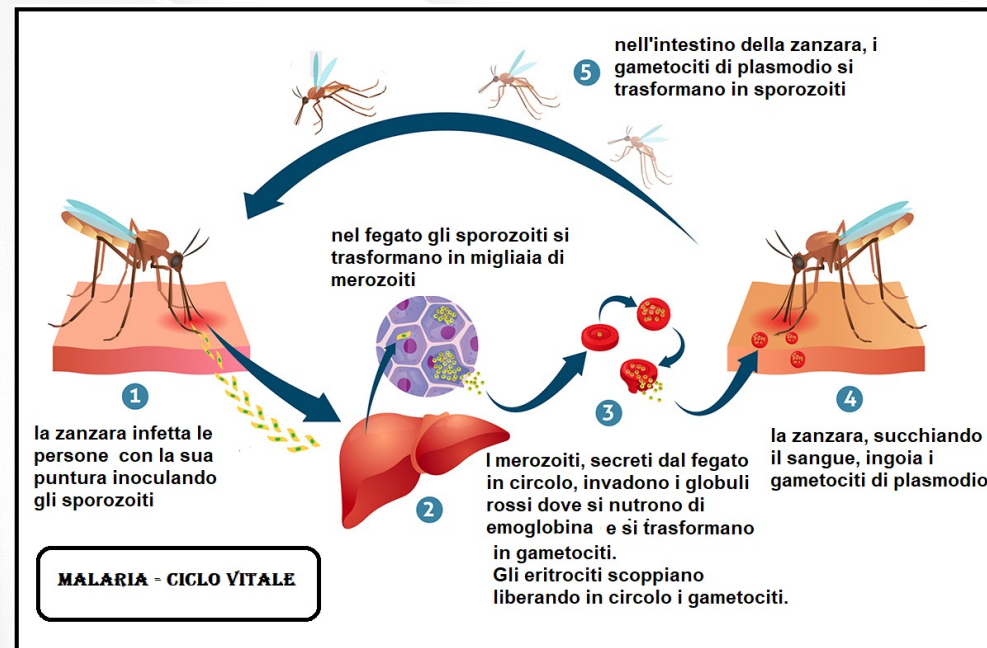
Trasmissione e incubazione del *P. malariae*

La trasmissione della malaria avviene generalmente attraverso Anopheles, insetto noto per la trasmissione di Plasmodium, vermi parassiti e virus.



Il periodo di incubazione del *P. malariae* può durare circa 1 mese (da 18 a 40 giorni), in alcuni casi rari dura anche anni (il plasmodio può persistere per anni negli eritrociti).

Una volta sviluppato in schizonte (ciclo asessuato) o gametociti (ciclo sessuale) all'interno dell'organismo il plasmodio genera una lisi all'interno dell'eritrocita che permette di infettare altri globuli rossi.



L'andamento è generalmente benigno, ma dopo il primo attacco sono molto frequenti ricadute, a volte con cadenza semestrale, nell'arco di 50 anni.

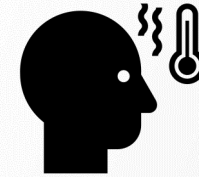
Sintomatologia del P. malariae

Le infezioni da *P. malariae* possono causare sintomi non acuti; una lieve parassitemia può persistere per decenni e portare a nefriti o nefrosi da immunocomplessi o a splenomegalia tropicale.

Quando sintomatica, la febbre tende a comparire ad intervalli di 72 h (febbre quartana), poiché il ciclo riproduttivo all'interno dei globuli rossi è di 3 giorni; con successiva lisi ed infezione di altri globuli rossi avviene la risposta immunitaria che determina la febbre .

Altri sintomi causati da *P. malariae*:

- Anemia
- Ittero
- Splenomegalia
- Epatomegalia



Le infezioni da *P. malariae* possono persistere per anni o addirittura decenni in modo asintomatico, con i parassiti che sopravvivono a bassi livelli nel sangue. Questo è dovuto alla capacità del parassita di mantenere un'infezione cronica a bassa densità.

Mortalità del P. malariae

La mortalità associata a *Plasmodium malariae* è generalmente bassa rispetto a quella causata da altre specie di *Plasmodium*, in particolare *Plasmodium falciparum*, che è responsabile della maggior parte dei decessi per malaria. Tuttavia, ci sono alcune considerazioni importanti riguardanti la mortalità e le complicazioni legate a *P. malariae*:

- **Mortalità Diretta:**

- Le infezioni da *P. malariae* tendono a essere meno gravi e raramente sono fatali. La febbre quartana, il sintomo caratteristico di questa infezione, non è solitamente associata a complicazioni letali.
- La mortalità diretta è rara, soprattutto se i pazienti ricevono una diagnosi tempestiva e un trattamento adeguato con farmaci antimalarici.

- **Mortalità Indiretta:**

- Le infezioni croniche e non trattate da *P. malariae* possono portare a complicazioni a lungo termine, come la sindrome nefrotica, che può essere grave e potenzialmente letale. La sindrome nefrotica è una condizione in cui i reni perdono grandi quantità di proteine nelle urine, portando a edema, ipertensione e rischio di infezioni.
- Nei bambini, la sindrome nefrotica associata a *P. malariae* può essere particolarmente severa e, se non trattata, può aumentare il rischio di mortalità.

Plasmodium knowlesi

Plasmodium knowlesi è stato l'ultimo parassita associato alla malaria scoperto.

La sua storia risale al 1927, quando venne descritto per la prima volta dal parassitologo italiano **Giuseppe Franchini**. Ne venne poi accertata l'esistenza nel 1931 da **Campbell Hackett** nell'*Istituto per la Ricerca Medica di Kuala Lumpur*, Malesia.

Per confermare la presenza del parassita, Hackett prese in esame il sangue di un macaco, il *Macaca fascicularis*, infetto.

Successivamente il plasmodio è stato nominato in onore di **Robert Knowlesi**, un medico britannico che aveva fatto significativi contributi alla ricerca sulla malaria.

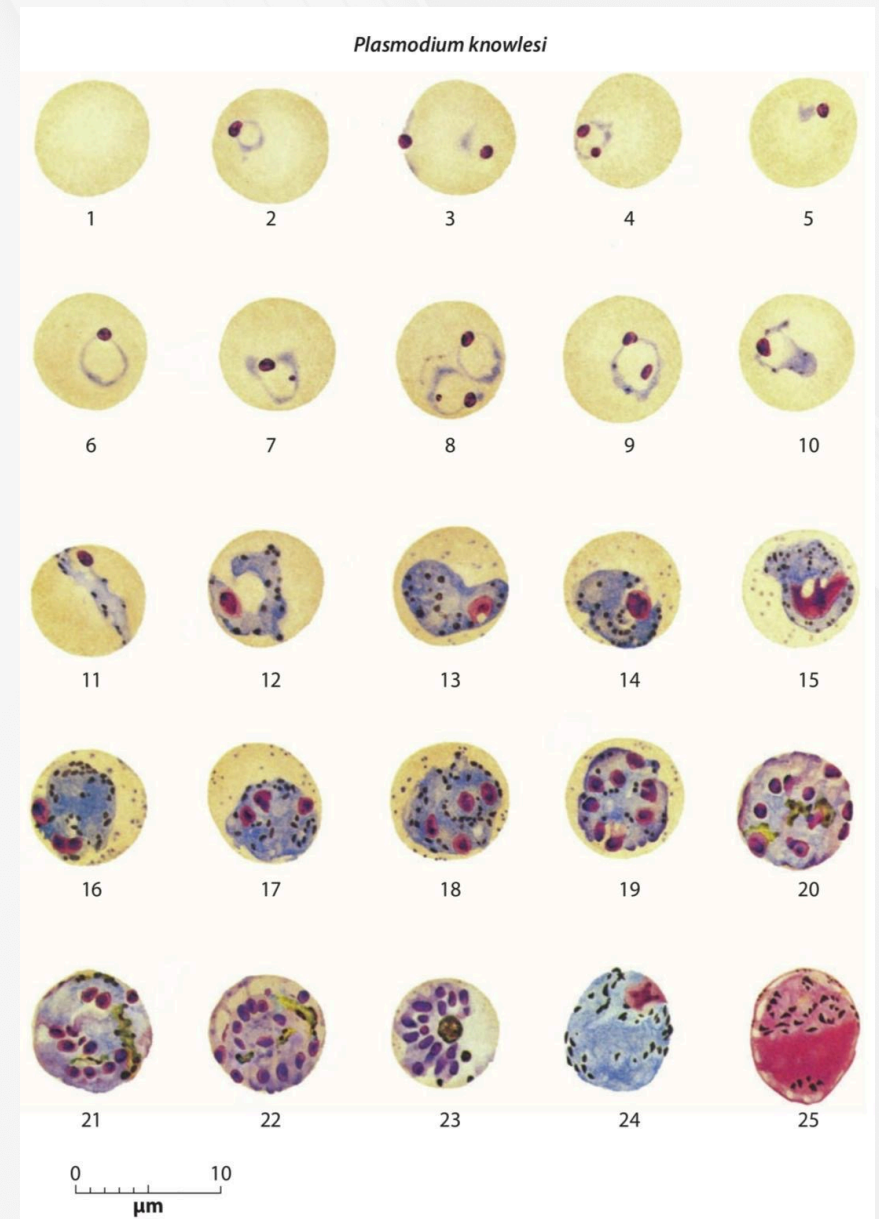


Caratteristiche generali

La morfologia di *P. knowlesi* è molto simile a quella di *P. falciparum* nello stadio di giovani trofozoiti (forme ad anello; 2-9) a quella di *P. malariae* nei successivi stadi eritrocitari.

Sebbene vi siano alcune differenze minori tra *P. knowlesi* e *P. malariae*, è difficile identificare *P. knowlesi* basandosi sulla sola morfologia.

Tuttavia, in caso di sintomi severi, la presenza di stadi eritrocitari che ricordano *P. malariae* con parassitemia $> 5.000/\mu\text{L}$ e una recente storia di permanenza nelle aree marginali delle foreste del sud-est asiatico dovrebbero essere sufficienti per effettuare diagnosi di malaria da *P. knowlesi* (o quantomeno sospettarla).



Ciclo vitale

Il ciclo vitale di *P. knowlesi* è simile a quello degli altri parassiti della malaria del genere *Plasmodium*, ma con alcune caratteristiche distintive, ovvero:

- **Ciclo eritrocitico breve:** *P. knowlesi* ha il ciclo eritrocitico più breve tra i parassiti della malaria, con una durata di 24 ore, il che può portare a una rapida progressione della malattia.
- **Trasmissione zoonotica:** Oltre a infettare gli esseri umani, *P. knowlesi* infetta comunemente i macachi (primati non umani), che fungono da serbatoio naturale. Questo significa che ospitano il parassita senza necessariamente manifestare gravi sintomi della malattia e servono come una fonte continua di infezione per le zanzare.

Macaca nemestrina



Macaca leonina

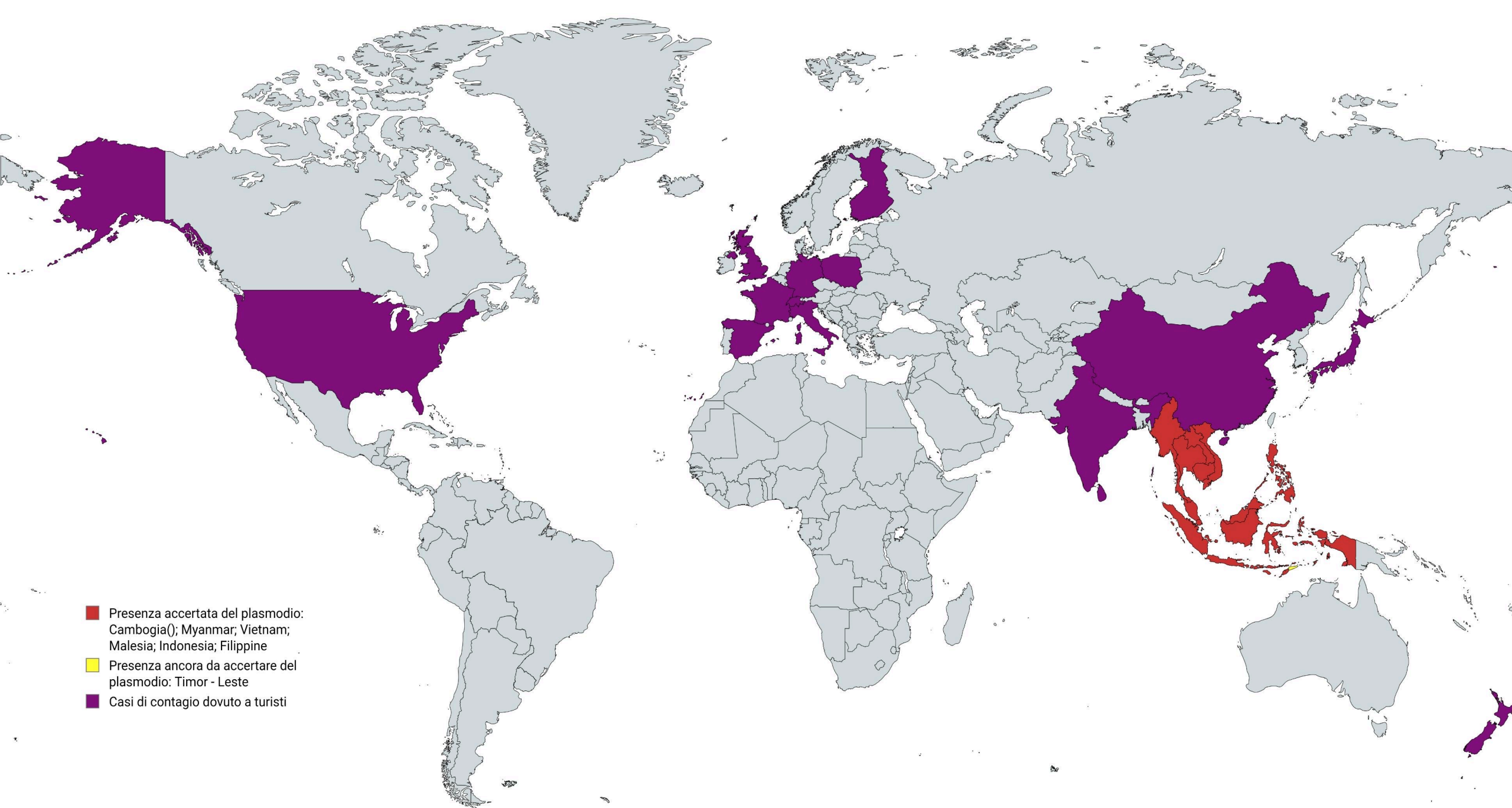


Area di impatto

In seguito alla scoperta del parassita, la regione del sud-est asiatico si è rivelata essere l'epicentro globale della malaria da *P. knowlesi*, con il Timor-Leste come unico paese che non ha, ancora, segnalato ufficialmente alcun caso di malaria fino ad oggi.

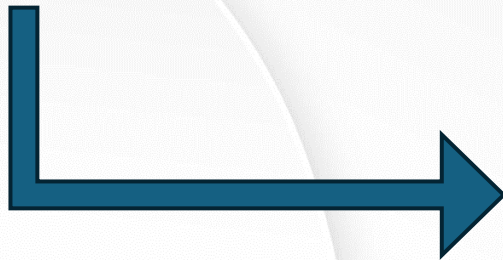
Nonostante la circoscrizione al territorio asiatico, non sono rari i casi in cui turisti hanno contratto la malattia esportandola nel loro paese d'origine.





- Presenza accertata del plasmodio:
Cambogia(); Myanmar; Vietnam;
Malesia; Indonesia; Filippine
- Presenza ancora da accertare del
plasmodio: Timor - Leste
- Casi di contagio dovuto a turisti

- Di seguito una tabella in cui sono riportati i vari casi di malaria causata da *P. knowlesi* durante l'ultimo ventennio



Nome dei paesi/territori	Osservazioni	Riferimenti
Cambogia	Due casi segnalati nella provincia di Pailin nel 2010	[18]
Indonesia	Un australiano che lavora nell'area boschiva del Kalimantan meridionale, nel Borneo indonesiano (2010); cluster di casi nel nord di Sumatra, Indonesia (2015)	[19, 20]
Laos	Un adolescente che vive in un villaggio circondato dalla foresta nella provincia di Attapeu, Laos (2016)	[21]
Malaysia	120 dei 208 campioni di malaria raccolti nella divisione Kapit, Sarawak, Borneo malese, dal 2000 al 2002 erano infezioni da <i>P. knowlesi</i> ; 77 dei 111 campioni reclutati da diversi stati della Malesia peninsulare dal 2005 al 2008 erano infezioni da <i>P. knowlesi</i>	[5, 22]
Myanmar	Nel 2008 sono state rilevate monoinfezioni e infezioni miste che coinvolgono <i>P. knowlesi</i> nel Myanmar meridionale	[23]
Singapore	Il soldato ha contratto l'infezione durante l'addestramento dell'esercito in un'area boschiva nel 2007	[24]
Tailandia	Un cittadino thailandese di Bangkok si è recato nelle aree collinari della provincia di Prachuap Khiri Khan, nel sud della Thailandia, nel 2000.	[25]
Le Filippine	Cinque casi rilevati nella provincia di Palawan nel 2006	[26]
Vietnam	Infezioni da <i>P. knowlesi</i> sono state rilevate in campioni di malaria raccolti dal 2004 al 2006 nella provincia di Ninh Thuan	[27, 28]
Cina	Un caso dalla provincia dello Yunnan verificato tramite PCR come malaria knowlesi, segnalato nel 2006; e il primo caso importato (un paziente ha viaggiato nelle foreste tropicali della Malesia) nel 2014	[29, 30]
Finlandia	Il paziente ha viaggiato nella Malesia peninsulare nel 2007	[31]
Francia	Il paziente ha viaggiato sulla costa occidentale della Thailandia nel 2010	[32]
Germania	Il paziente ha viaggiato in Thailandia dal 25 dicembre 2016 al 13 gennaio 2017, ha visitato diverse località nelle province di Chiang Mai e Ranong	[33]
India	Monoinfezioni e infezioni miste da <i>P. knowlesi</i> sono state rilevate nelle isole Nicobare e Andamane in India, dal 2004 al 2010	[34]
Italia	Il paziente ha contratto l'infezione durante un viaggio nelle Filippine nel 2016	[35]
Giappone	Il paziente ha contratto l'infezione durante un viaggio nella Malesia peninsulare nel 2012	[36]
Nuova Zelanda	Il paziente ha contratto l'infezione durante un viaggio nel Borneo malese nel 2010	[37]
Polonia	Il paziente ha contratto l'infezione durante un viaggio a Sumatra, in Indonesia, nel 2018	[38]
Scozia	Il paziente ha contratto l'infezione durante un viaggio nel Borneo malese nel 2012	[39]
Spagna	Il paziente ha mostrato sintomi dopo essere tornato da un viaggio di sei mesi in Indonesia, Malesia peninsulare, Thailandia e Vietnam nel 2009	[40]
Sri Lanka	Il paziente ha contratto l'infezione in un'area boschiva nella Malesia peninsulare nel 2016	[41]
Svezia	Il paziente ha contratto l'infezione durante un viaggio nel Borneo malese nel 2006	[42]
stati Uniti	Il primo ha segnalato un'infezione naturale da <i>P. knowlesi</i> nell'uomo, acquisita durante un viaggio nella Malesia peninsulare	[14]

BIBLIOGRAFIA

Sangole, Mosam K., and Sanjay T. Gandhe. "Malaria Diagnosis Using Microscopic Imaging." *International Journal of Health Sciences*, vol. 6, no. 2, 2022, pp. 880-897, doi:[10.53730/ijhs.v6n2.8735](https://doi.org/10.53730/ijhs.v6n2.8735).

Vijayalakshmi A, Rajesh Kanna B Deep learning approach to detect malaria from microscopic images. *Multimed Tools Appl* **79**, 15297–15317 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11042-019-7162-y>

GLOBAL MALARIA REPORT 2023 ISBN: 978-92-4-008617-3 [Global Malaria Programme \(GMP\)](#) World Health Organization
Ministero della Salute Italiano – Istituto Superiore di Sanità

Flannery EL, Markus MB, Vaughan AM. *Plasmodium vivax*. *Trends Parasitol.* 2019;35(7):583-584. doi:10.1016/j.pt.2019.04.005

Paton, D.G., Childs, L.M., Itoe, M.A. *et al.* Exposing *Anopheles* mosquitoes to antimalarials blocks *Plasmodium* parasite transmission. *Nature* **567**, 239–243 (2019). doi :[10.1038/s41586-019-0973-1](https://doi.org/10.1038/s41586-019-0973-1)

Dott. Francesco Bernieri Medico, Consulente CRRVEQ, Milano [Malaria: aspetti preanalitici, metodologie e tecniche diagnostiche](#)

Sutherland CJ. Persistent Parasitism: The Adaptive Biology of Malariae and Ovale Malaria. *Trends Parasitol.* 2016;32(10):808-819. doi:10.1016/j.pt.2016.07.001

Higgins, M., Manko, E., Ward, D. *et al.* New reference genomes to distinguish the sympatric malaria parasites, *Plasmodium ovale curtisi* and *Plasmodium ovale wallikeri*. *Sci Rep* **14**, 3843 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54382-5>

Anstey NM, Grigg MJ. Zoonotic Malaria: The Better You Look, the More You Find. *J Infect Dis.* 2019;219(5):679-681. doi:10.1093/infdis/jiy520

Brasil P, Zalis MG, de Pina-Costa A, et al. Outbreak of human malaria caused by *Plasmodium simium* in the Atlantic Forest in Rio de Janeiro: a molecular epidemiological investigation. *Lancet Glob Health.* 2017;5(10):e1038-e1046. doi:10.1016/S2214-109X(17)30333-

Malaria Annual Epidemiological Report for 2019, ECDC SURVEILLANCE REPORT

GRAZIE
DELL'ATTENZIONE



Julio

Julio

