

PHYLUM APICOMPLEXA - CLASSE SPOROZOASIDA - ORDINE HAEMOSPORIDA
FAMIGLIA PLASMODIIDAE
[MALATTIA: MALARIA]

La Famiglia Plasmodiidae comprende circa 200 specie di Protozoi parassiti **dixeni**, il cui ciclo si svolge tra **ospiti definitivi Invertebrati** (zanzare) e **ospiti intermedi Vertebrati** (Uccelli e Mammiferi), in cui causano una malattia simile a quella umana.

L'Uomo può essere parassitato da quattro specie del genere *Plasmodium*: *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. falciparum*, le quali causano la malattia infettiva non contagiosa conosciuta universalmente come **malaria** o, nei Paesi francofoni, paludismo.

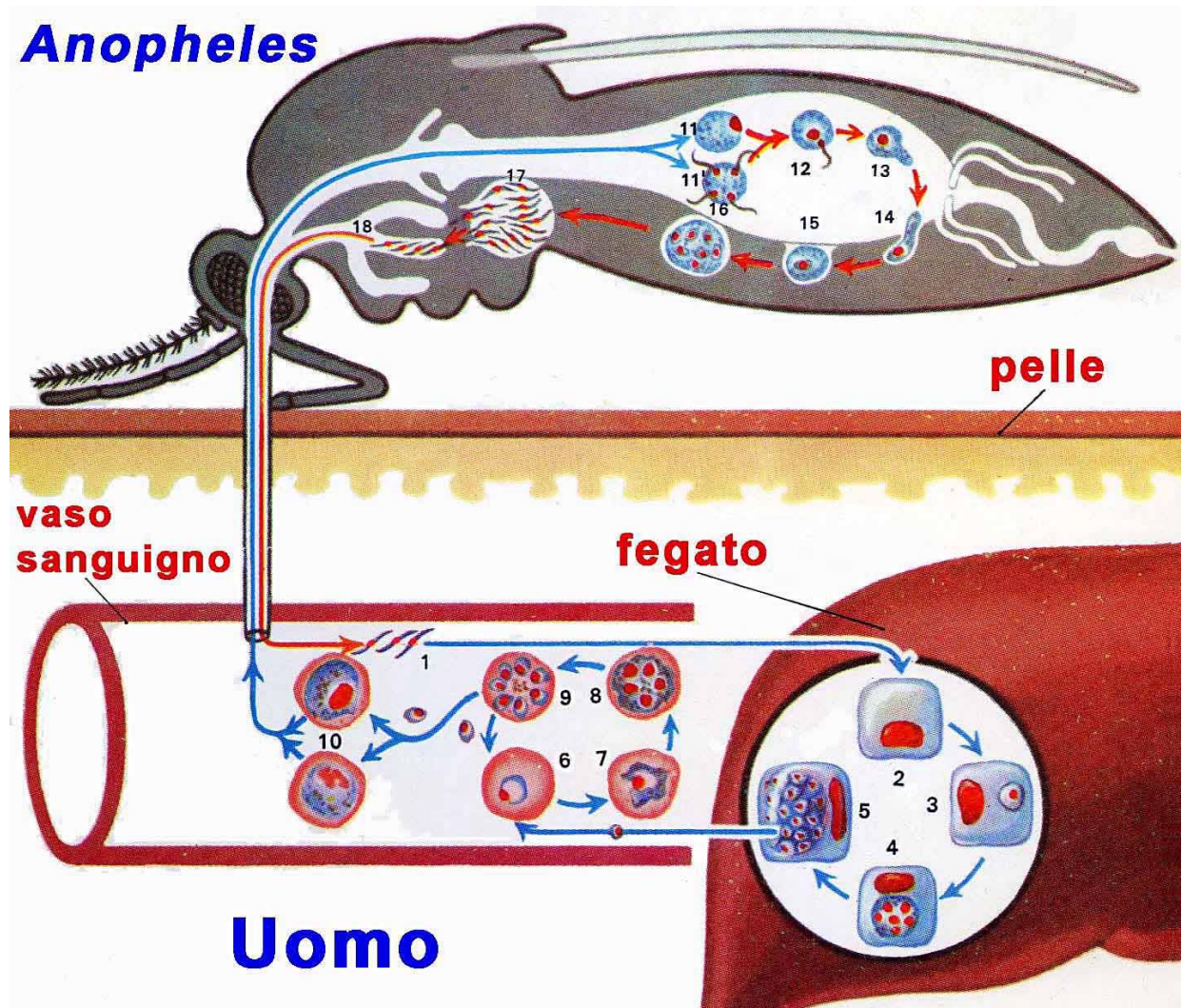


Figura ma1. Ciclo di vita di *Plasmodium*. Attenzione alla direzione delle frecce.

CICLO DI VITA E BIOLOGIA (Fig.ma1, da [1] a [18]). La descrizione che segue si riferisce a tutte le 4 specie; i dettagli delle eventuali differenze sono descritti in **Ta-bella ma1**. L'ospite invertebrato e vettore biologico dei Plasmodi parassiti dell'Uomo è costituito da diverse specie appartenenti al genere *Anopheles* (Insetti, Ordine Diptera, Famiglia Culicidae: vedi più avanti).

Quando una femmina infettante di *Anopheles* punge, con la sua saliva inietta nel torrente circolatorio dell'ospite Vertebrato sottili **sporozoiti** [1], lunghi circa 15 μm , che circolano per circa un'ora. Gli sporozoiti che giungono nella circolazione epatica penetrano negli epatociti [2] e si accrescono in grandi **trofozoiti** [3] consumando poco a poco la cellula ospite. Dopo circa una settimana il trofozoite inizia la:

- 1) **schizogonia esoeритроцitaria (o epatica)**, ovvero il primo fondamentale ciclo di riproduzione asessuata, trasformandosi in un grosso **schizonte** [4-5] che si frammenterà in migliaia di piccoli **merozoiti** uninucleati ciascuno lungo circa 2.5 μm . Questi escono dall'epatocita consumato e si riversano nel sangue, ciascuno entrando in un eritrocita e trasformandosi in un piccolo trofozoite caratterizzato da un grande vacuolo digestivo che spinge da un lato il nucleo della cellula del parassita riducendo il suo citoplasma ad un sottile strato periferico, che dà al trofozoite il tipico aspetto “ad anello” [6-7]. Dopo un tempo variabile dipendente dalla specie di *Plasmodium* (vedi **Tabella ma1**) inizia la:
- 2) **schizogonia eritrocitaria (o ematica)**, in cui il trofozoite si trasforma in un piccolo **schizonte** [8] che produrrà per divisione mitotica del nucleo da 8 a 32 **merozoiti** [9] secondo la specie, ciascuno dei quali invaderà un altro eritrocita [6→9]. Questo processo di successive invasioni dei globuli rossi si ripeterà ciclicamente finché la risposta immunitaria dell'ospite innescherà la fase successiva, ovvero la:
- 3) **formazione dei gametociti**, nella quale una parte dei merozoiti entrati negli eritrociti non continuerà il processo schizogonico ma si trasformerà in **gametociti femminili (macrogametociti)** e l'altra in **gametociti maschili (microgametociti)** [10], ovvero forme pre-sessuate che occupano quasi tutto il globulo rosso, non si moltiplicano, modificano la struttura antigenica e rimangono in attesa del:
- 4) **ciclo gamogonico (o sporogonico)**, che può continuare solo se gli eritrociti infetti dai gametociti vengono ingeriti dall'Anofelino vettore. Nell'intestino dello insetto infatti il macrogametocita matura in un **macrogamete femminile** [11], ed il microgametocita subisce un processo di moltiplicazione mitotica, trasformandosi in 8 **gameti maschili** a forma di flagello [11'], mobili e lunghi circa 20 μm . Uno dei gameti maschili penetra nel gamete femminile e i nuclei si fondono [12] formando l'unico stadio diploide di tutto il ciclo: lo **zigote** [13]. Questo, chiamato anche **oocinete**, è in grado di spostarsi con movi-

menti vermiformi e prende contatto con la parete intestinale dell'Anofele, penetrandovi [14] ma non attraversandola: infatti si ferma nello spessore della parete stessa, si arrotonda e si trasforma in una **oocisti** sferica [15], nella quale il nucleo diploide subisce una divisione meiotica (ripristinando quindi l'aploidia tipica degli Apicomplexa) e molte successive divisioni mitotiche [16] che alla fine del processo di maturazione portano alla formazione di circa 4000 sporozoiti sottili ed allungati [17]. Gli sporozoiti quindi rompono la parete dell'oocisti e cadono nella cavità generale del corpo dell'insetto (la cavità celomatica), ripiena di un liquido detto emolinfa. In parte aiutati dal movimento della emolinfa (causato da contrazioni del corpo della zanzara) ed in parte perché capaci di movimento, gli sporozoiti si disseminano nel corpo dell'insetto: quelli che entrano in contatto con le ghiandole salivari della Anofele le riconoscono per la presenza di recettori specifici e vi penetrano sistemandosi radialmente, tutti orientati verso il dotto salivare [18]. Quando la zanzara pungerà un ospite pomperà saliva anti-coagulante ed irritante e con questa gli sporozoiti del Plasmodio, che in questo modo chiudono il ciclo. La durata del ciclo sporogonico è fortemente dipendente dalla temperatura esterna a cui è soggetta la zanzara vettrice: *Plasmodium falciparum* completa il ciclo sporogonico ad una temperatura media di 30°C in circa dieci giorni, mentre a temperature inferiori la durata diventa progressivamente maggiore.

Quanto detto è valido (salvo le differenze illustrate in **Tabella ma1**) per tutte le quattro specie; va però sottolineato che nel caso di *Plasmodium vivax* e *ovale* esiste un'altra fase di vita, assente nelle altre due specie, detta **ipnozoite**: una parte degli sporozoiti penetrati negli epatociti non si trasforma subito in trofozoiti, ma piuttosto rimane dormiente per riattivarsi anche a distanza di mesi sviluppandosi nel trofozoite epatico che continuerà il ciclo normalmente.

MORFOLOGIA. Per la morfologia dei vari stadi di vita riferirsi alle **Figure** da **ma2** a **ma11**.



Figura ma2

Plasmodium malariae

Forme ematiche (striscio di sangue: ricordare che il diametro di un globulo rosso normale è costantemente di circa 7 μ m!).

1-2: trofozoiti giovani ad anello; 3-6: trofozoiti “a fascia”; 7-8: schizonti immaturi; 9-10: schizonti maturi “a rosetta”; 11: macrogametocita (femminile); 12: microgametocita (maschile). I trofozoiti sono dotati di movimenti ameboidi.

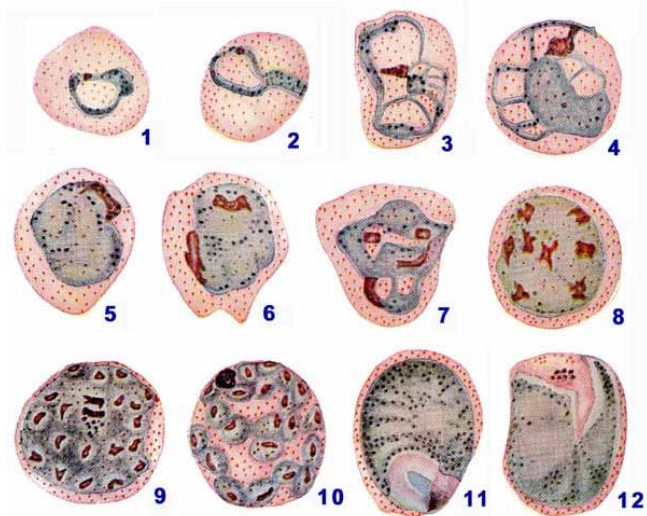


Figura ma3

Plasmodium vivax

Forme ematiche (striscio di sangue).

1-4: trofozoiti (notare il **progressivo ingrandimento e la deformazione del globulo rosso e la presenza delle “granulazioni di Schüffner”**); 5: trofozoite anziano; 6-8: schizonti immaturi; 9-10: schizonti maturi; 11: macrogametocita (femminile); 12: microgametocita (maschile). Il globulo rosso infetto dalle forme a 12 aumenta il suo diametro del 50-60%, cioè passa da 7 a 10-12 μ m.

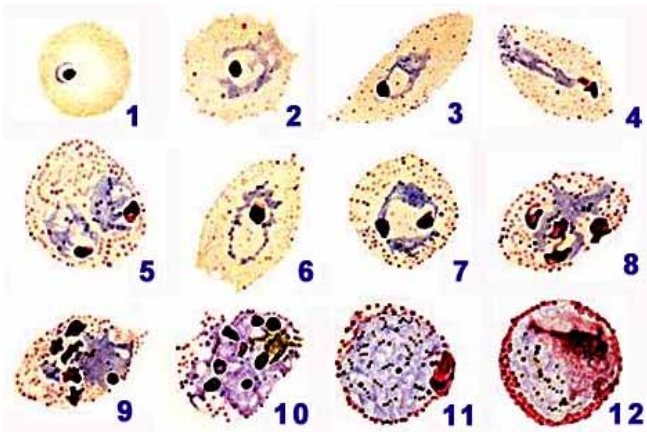


Figura ma4

Plasmodium ovale

Forme ematiche (striscio di sangue).

1-4: trofozoiti ad anello (notare la progressiva deformazione “a cometa” del globulo rosso e le “**granulazioni di Schüffner**”); 5-9: schizonti immaturi; 10: schizonte maturo; 11: macrogametocita (femminile); 12: microgametocita (maschile).

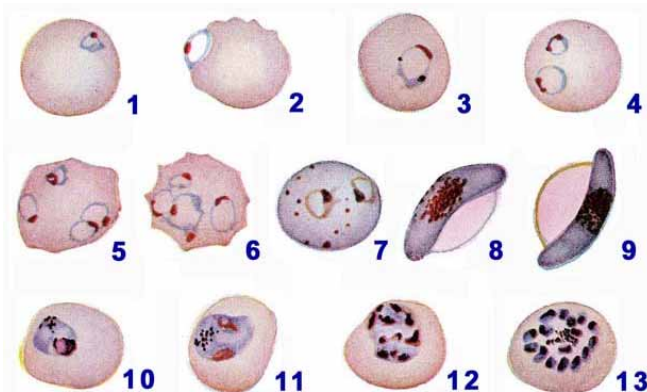


Figura ma5

Plasmodium falciparum

Forme ematiche (striscio di sangue).

1-7: trofozoiti ad anello (notare in 4-6 più trofozoiti in singoli globuli rossi, e in 7 le “**granulazioni di Maurer**”); 8: microgametocita (maschile); 9: macrogametocita (femminile); 10-12: schizonti immaturi; 13: schizonte maturo. La schizogonia avviene nei capillari degli organi interni, per cui le forme 10-13 generalmente non si osservano nel sangue periferico. **Notare la forma dei gametociti.**



Fig.ma6. Grosso **schizonte epatico** lungo circa 60 μm . Un singolo schizonte di *P.falciparum* è in grado di produrre fino a 40.000 merozoiti.

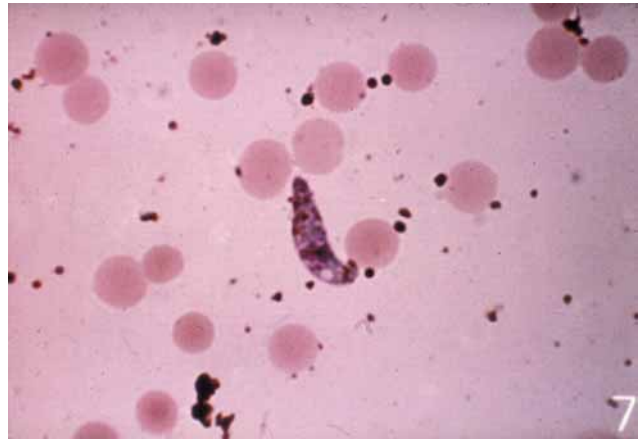


Fig.ma7. **Oocinete** (zigote) di *Plasmodium*, lungo circa 10 μm , localizzato nello stomaco dell'Anofele. Si notano alcuni eritrociti non digeriti.

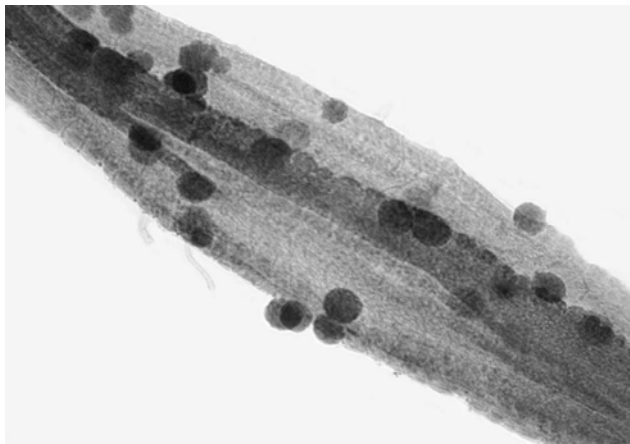


Fig.ma8. Intestino medio (stomaco) di Anofele. Le sferette scure sono oocisti di *Plasmodium*.

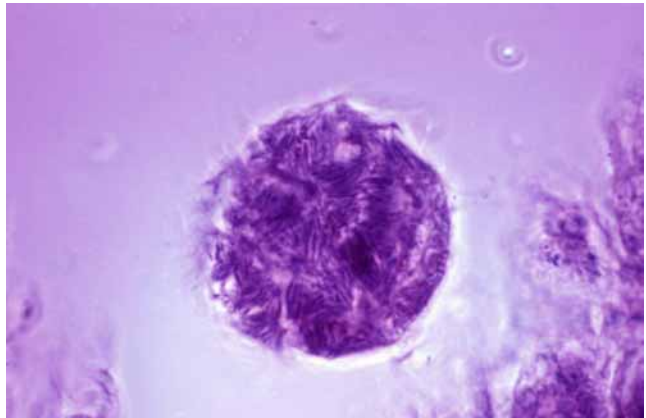


Fig.ma9. Oocisti matura di *Plasmodium*, 60 μm circa. Nell'interno si intravedono gli sporozoiti.

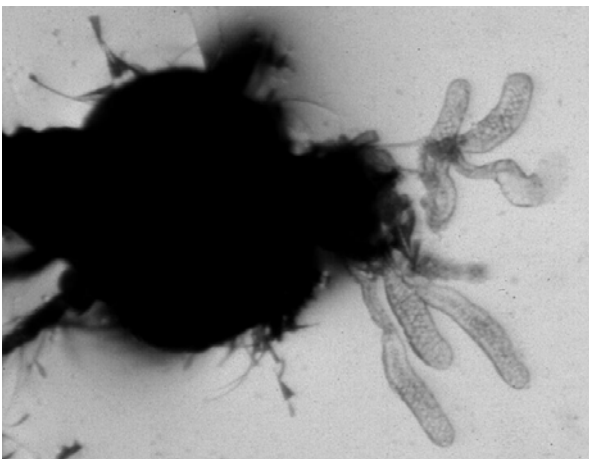


Fig.ma10. A sinistra capo di Anofele, a destra le sue due ghiandole salivari, ciascuna trilobata. Della ghiandola superiore si intravede anche il dotto salivare.

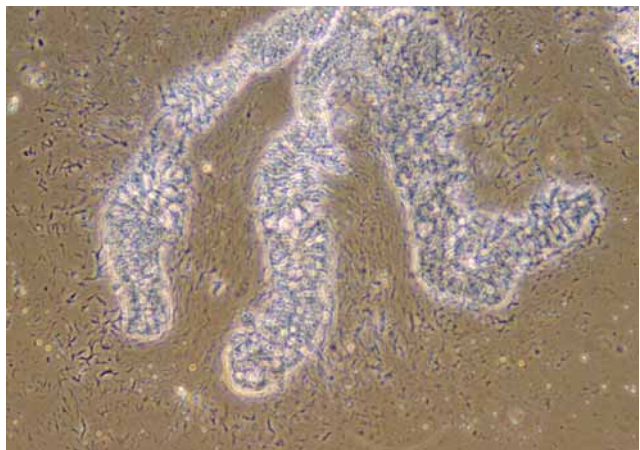


Fig.ma11. Una delle ghiandole salivari, infetta da centinaia di sporozoiti, che appaiono come sottili filamenti un po' dappertutto. Ogni puntura di questa zanzara avrebbe probabilmente causato un caso di malaria.

Tabella ma1. Caratteri differenziali dei Plasmodi dell’Uomo.

Stadio o periodo	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>
trofozoite giovane (“ <u>forma ad anello</u> ”)	circa 1/3 del diametro dell'eritrocita; vacuolo grande; nucleo scuro	come <i>vivax</i> ; frequenti gli eritrociti poliparassitati	circa 1/5 del diametro dell'eritrocita; nucleo piccolo, spesso duplice; frequenti i trofozoiti accollati alla parete dell'eritrocita	nucleo singolo e grande; citoplasma circolare, di frequente più piccolo e spesso di quello di <i>vivax</i>
trofozoite anziano	riempie quasi l'eritrocita; pseudopodi comuni; uno o più vacuoli; nucleo grande	compatto; poco vacuolizzato	non comune nel sangue periferico	citoplasma compatto; poco o nessun vacuolo; spesso forma una fascia attraverso l'eritrocita
aspetto dell'eritrocita	più grande del normale (circa 50% o più); spesso irregolare; sempre granulazioni di Schüffner salvo che con i trofozoiti giovani	più grande del normale, spesso ovale e con i margini irregolari; granulazioni di Schüffner presenti	dimensioni normali; granulazioni di Maurer in eritrociti con trofozoiti anziani (non frequenti nel sangue periferico)	dimensioni normali o leggermente più piccoli; rare le granulazioni di Ziemann
schizonte	12-24 merozoiti; riempie quasi completamente l'eritrocita; presenti nel sangue periferico	4-16 merozoiti (di solito 8); presenti nel sangue periferico	da 8 a 24 o più merozoiti; rari o assenti nel sangue periferico	da 6 a 12 merozoiti, di solito sistemati “a rosetta”; spesso presenti nel sangue periferico
microgametocita	arrotondati o ovali; riempiono quasi completamente l'eritrocita ingrandito; cromatina rosa, diffusa e grande; senza vacuolo	come <i>vivax</i> , ma un po' più piccoli; un po' più piccolo del macrogametocita	forma di mezzaluna; lunghi circa 1.5 volte il diametro dell'eritrocita che è deformato; cromatina rosa e diffusa; citoplasma blu pallido	come <i>vivax</i> , ma più piccoli e senza deformazione dell'eritrocita
macrogametocita	come il microgametocita, ma il citoplasma si colora blu scuro e la cromatina è rosso scuro e più compatta	riempie completamente l'eritrocita ed è più grande del microgametocita	grandezza e forma del microgametocita ma la cromatina è più compatta e rossa ed il citoplasma più scuro	presenza di granuli abbondanti e marroni
durata del ciclo schizogonico esoeritrocitario	8 giorni	9 giorni	6 giorni	13 giorni
durata della prepatenza (incubazione)	11-13 giorni	10-14 giorni	9-10 giorni	15-16 giorni
durata del ciclo schizogonico ematico	48 ore	circa 48 ore	36-48 ore (di solito 48)	72 ore
durata del ciclo sporogonico nel vettore	10 giorni a 25-30°C	14 giorni a 27°C	10-12 giorni a 27°C; sotto 20°C si blocca	25-28 giorni a 22-24°C

PATOLOGIA/SINTOMI. La sintomatologia della malaria dipende molto dal livello quantitativo della parassitemia (ovvero dal **carico parassitario**). Il periodo di incubazione generalmente varia intorno alle due settimane. Appena il carico parassitario diventa significativo, il malato comincia ad accusare mal di testa, stanchezza, dolori ossei e articolari, brividi e febbre. Come la malattia progredisce i sintomi diventano più

evidenti. Brividi e febbre seguono un andamento ciclico (**parossismo** febbrile) con il periodo sintomatico che dura 8-12 ore. Tra i periodi sintomatici intercorre un periodo di condizioni relativamente normali, la cui durata dipende dalla specie di Plasmodio: è di circa 34-36 ore nel caso di *P. vivax* e *P. ovale* (**malariae terzane**) e 58-60 ore nel caso di *P. malariae* (**malaria quartana**). Nonostante in teoria la malaria da *Plasmo-*

Plasmodium falciparum sia una terzana, il parossismo terziano classico si osserva raramente in questa malaria: è invece più frequente

una febbre persistente o parossismi quotidiani (**terzana maligna**) [Fig.ma12].

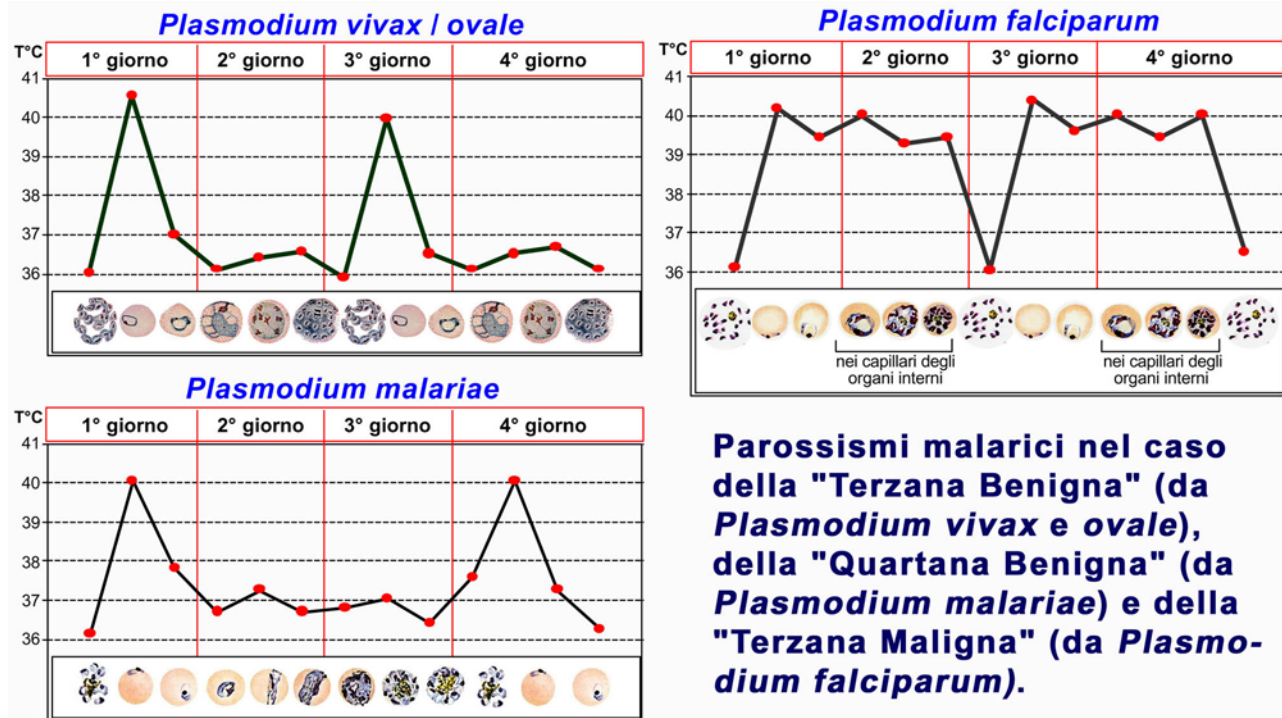


Figura ma12. Parossismi febbrili nelle quattro malarie umane (vedi testo). Notare che nel caso della quartana da *P. malariae* e nelle terzane benigne da *P. vivax* e *P. ovale* la temperatura corporea sale bruscamente subito dopo la schizogonia ematica, mentre nel caso della terzana maligna da *P. falciparum* la temperatura è sempre molto elevata e si abbassa, a volte anche al di sotto della norma, solo in corrispondenza della schizogonia. Notare inoltre che in *P. falciparum* la schizogonia avviene nei capillari degli organi interni, per cui difficilmente si vedono globuli rossi con schizonti nel sangue periferico.

Il parossismo febbrile malarico presenta aspetti tipici: comincia con una sensazione di freddo intenso che progredisce rapidamente fino a far sbattere i denti e a rendere labbra e unghie cianotiche a causa di una forte vasocostrizione periferica. Alla fine di questo periodo, che dura circa un'ora, la temperatura corporea comincia a salire fino a raggiungere 39-41°C. La febbre è associata con forte mal di testa, nausea, vomito e spesso convulsioni. Successivamente comincia una forte traspirazione e la temperatura comincia a scendere. Dopo poche ore il paziente si sente esausto ma i sintomi descritti spariscono e la situazione torna apparentemente normale, salvo ricominciare tutto daccapo quando giunge il parossismo successivo. Il parossismo febbrile è dovuto alla rottura sincrona dei globuli rossi infetti dagli schizonti che liberano i merozoiti, mettendo in circolo grandi quantità di cataboliti del parassita che hanno un effetto

tossico e pirogeno. In assenza di trattamento farmacologico in genere la persona colpita da malaria terzana benigna o da quartana guarisce spontaneamente (se non ci sono altre complicazioni dovute ad altre malattie o causate da forti stress, quali denutrizione, traumi, ecc.), mentre invece nel caso della terzana maligna da *P. falciparum* la situazione può progredire diventando sempre più grave fino a poter portare a morte il malato non immune (**malaria perniciosa**). La possibile letalità delle infezioni da *P. falciparum* è dovuta ad un fenomeno assente nelle infezioni causate dalle altre tre specie: la cosiddetta **citoaderenza** dei globuli rossi infetti. Questi infatti esprimono sulla loro superficie molecole con proprietà adesive di produzione parassitaria che fanno sì che gli eritrociti aderiscano gli uni con gli altri e con le pareti interne dei vasi (endoteli) sanguigni: se questo fenomeno, detto **sequestro**, avviene a livello

delle reti dei capillari degli organi interni ne consegue che i tessuti a valle delle ostruzioni non ricevono nutrimento ed ossigeno e vanno in necrosi, con effetti disastrosi ed alla fine mortali se quanto descritto avviene a livello, ad esempio, del cervello (**malaria cerebrale**) e dei reni. Una delle complicazioni più pericolose è quella della cosiddetta **malaria algida**, che consiste in un collasso cardiocircolatorio, con pelle fredda e cianotica, polso flebile e rapido in cui è difficile vedere le manifestazioni più tipiche della malaria classica, come la febbre periodica ed elevata; questo spesso non suscita il sospetto di chi deve diagnosticare la malattia, portando così rapidamente alla malaria perniziosa ed alla morte del malato.

Plasmodium falciparum produce soltanto **infezioni primarie**, ovvero quando il parassita viene eliminato non si hanno più attacchi (se la persona non viene di nuovo punta da una zanzara infettante), mentre nel caso di *P.vivax* e *P.ovale* sono frequenti le **recidive**, ovvero la riattivazione dell'infezione con conseguenti cicli terzani di schizogonia ematica e febbre a partire da ipnozoiti epatici: in ogni caso le recidive non durano più di alcuni mesi. In *Plasmodium malariae*, che invece è privo di ipnozoiti come *P.falciparum*, è frequente un altro tipo di ricaduta della malattia, detta **recrudescenza**, che consiste nella riattivazione della malattia a partire da forme ematiche circolanti del parassita che continuano a riprodursi in densità numerica molto bassa, senza produrre quindi i segni e i sintomi tipici della malaria; le recrudescenze (in genere attivate da qualsiasi motivo che deprima le difese immunitarie) diversamente dalle recidive possono durare molto nel tempo fino a ripresentarsi dopo anni o decenni dall'infezione primaria.

Uno dei segni tipici della malaria cronica nelle zone endemiche, oltre l'ovvia **anemia**, è la **splenomegalia**, ovvero l'ipertrofia della milza dovuta al superlavoro che quest'organo deve compiere per svolgere la sua funzione emocateretica¹. Come si è

accennato, sfortunatamente i segni e sintomi della malaria, inclusa l'anemia, la febbre periodica e la splenomegalia non sono specifici di questa malattia e possono essere quindi confusi con quelli di molte altre patologie, rendendo a volte la diagnosi troppo tardiva perché si possa intervenire in maniera efficace.

EPIDEMIOLOGIA. La malaria è oggi distribuita in forma endemica in tutta la fascia compresa tra i due Tropici, dove l'ecologia è permissiva per lo sviluppo delle specie locali di *Anopheles* vettrici (**Fig.ma13**). In questa fascia eco-climatica attualmente si stimano complessivamente circa mezzo miliardo di casi, causati per molta parte da *P.falciparum*, con circa 2 milioni di morti l'anno, la maggior parte dei quali concentrati nell'Africa tropicale a sud del Sahara a carico soprattutto dei bambini con meno di cinque anni di età. ***Plasmodium falciparum*** è distribuito tra il 30° parallelo nord ed il 30° sud, come si è detto soprattutto in Africa sub-Sahariana, ma anche nel subcontinente Indiano, nel Sud-Est Asiatico, in Papua-Nuova Guinea ed in alcuni Paesi dell'America Centrale e Meridionale. ***Plasmodium vivax***, responsabile di più di un terzo dei casi di malaria del mondo, ha un'estensione più ampia, arrivando più a nord e più a sud di *falciparum*: è di fatto assente in Africa Occidentale a causa di una particolarità delle popolazioni umane ivi residenti, che mancano di un recettore eritrocitario (il "Duffy") che viene utilizzato da *vivax* per riconoscere i globuli rossi: in queste zone *vivax* è sostituito da *P.ovale*, che non usa questo recettore cellulare; *P.vivax* è piuttosto comune nel subcontinente Indiano e in America Centrale. ***Plasmodium ovale***, specie affine a *vivax*, è responsabile di meno del 5% dei casi globali di malaria, ed è distribuito prevalentemente in Africa, soprattutto occidentale, ed in alcuni Paesi dell'America meridionale. ***Plasmodium malariae***, responsabile della malaria quartana benigna, causa circa il 5% dei casi di malaria ed ha una distribuzione grosso modo sovrapponibile a quella di *P.falciparum*.

¹ **Emocateresi.** Distruzione degli elementi figurati del sangue ed in particolare dei globuli rossi; viene effettuata dalla milza e dalle ghiandole linfatiche,

allo scopo di eliminare gli elementi invecchiati o danneggiati.

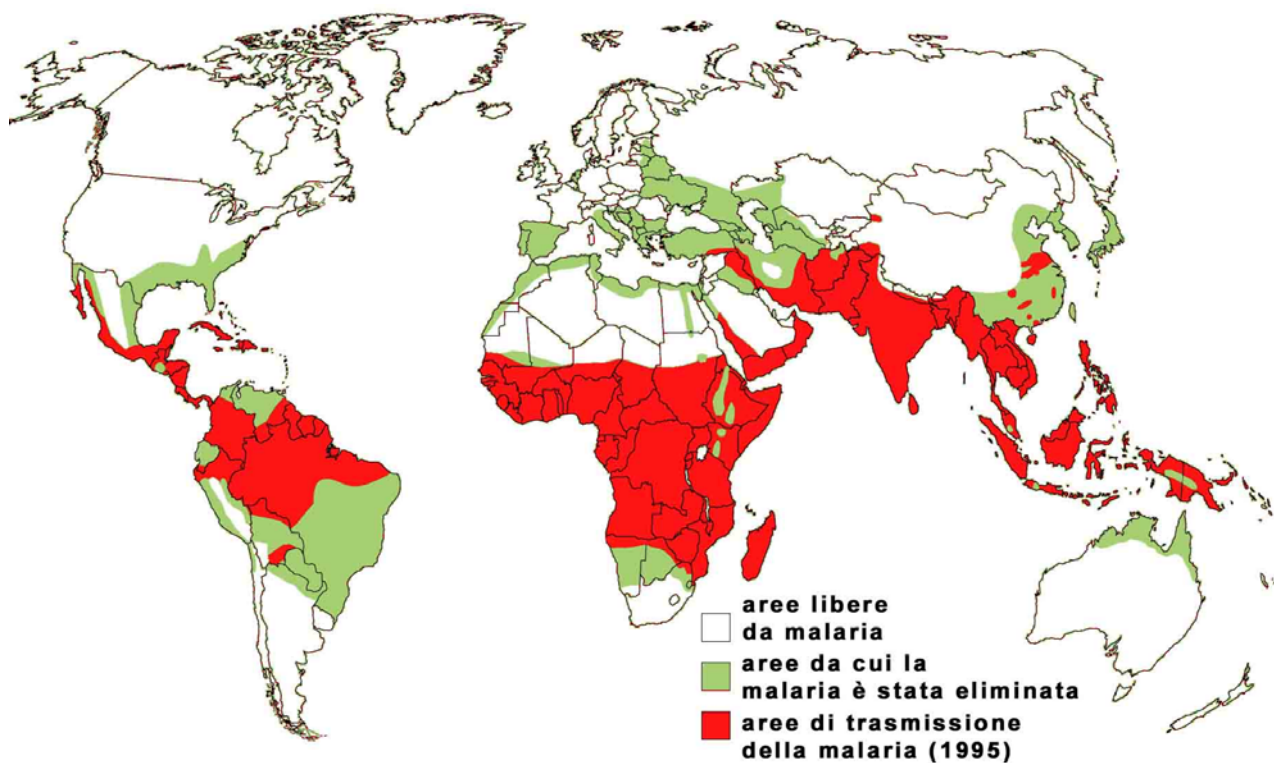
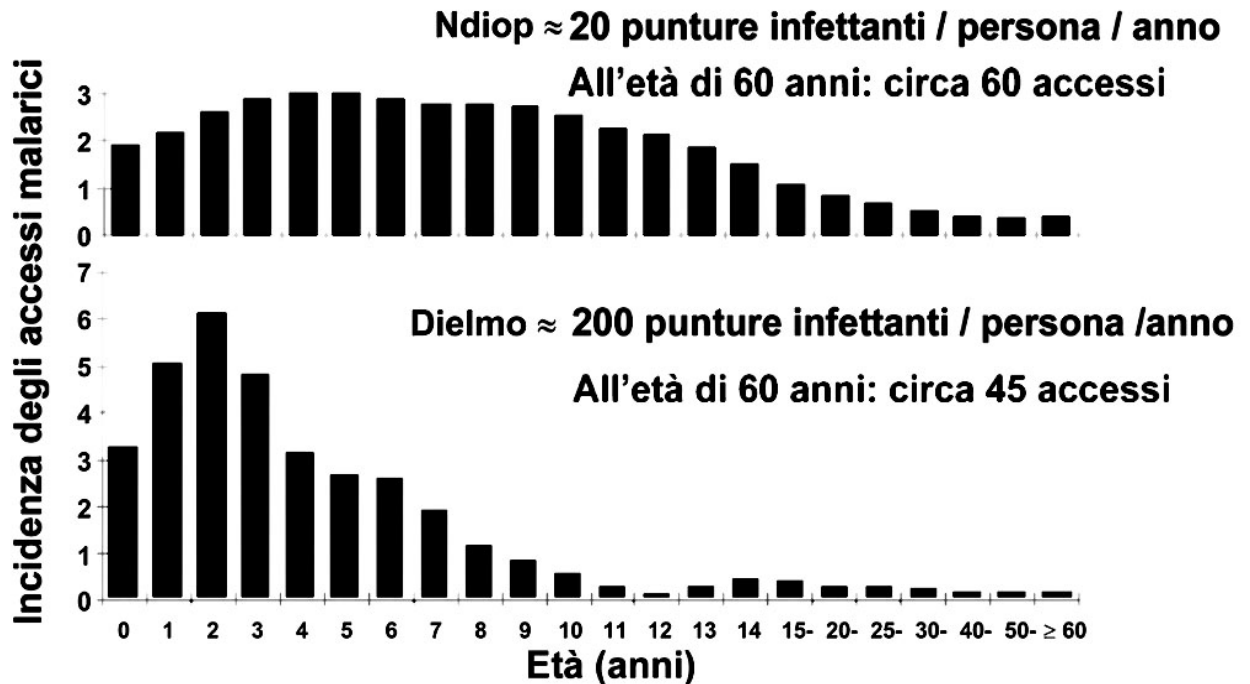


Figura ma13. Distribuzione globale della malaria. In rosso le aree attuali, in verde i limiti della distribuzione fino alla metà del Ventesimo Secolo, prima delle grandi campagne di eradicazione della malaria nelle aree temperate (Italia compresa).

Nelle zone geografiche iper- e olo-endemiche¹ per *Plasmodium falciparum*, dove il parassita è presente in maniera praticamente continua o subcontinua, avviene che le popolazioni residenti, se sopravvivono alla malaria durante la prima età infantile, sviluppano **semi-immunità**, ovvero gli anticorpi anti-Plasmodio prodotti dalla continua esposizione al parassita non sono in grado di eliminare il Protozoo, ma sono sufficienti ad evitare che la persona esprima una forma grave della malattia con esito probabilmente letale. In altre parole, questo vuol dire che la persona svilupperà una malaria che però non assumerà (in assenza di altri problemi di salute, naturalmente)

l'andamento grave e potenzialmente mortale descritto più sopra. Va però detto che la semi-immunità non è permanente nel tempo, dato che va pian piano perduta se la persona si sposta da un'area ad alta trasmissione (misurata come numero di punture infettanti per uomo per unità di tempo, in genere per anno) ad un'area con bassa trasmissione o esente da malaria, il che vuol dire che se poi la persona ritorna in un'area ad alta trasmissione correrà gli stessi rischi di contrarre una malaria grave come una persona che non sia mai stata esposta a *P.falciparum*, ovvero di sviluppare ad esempio una malaria cerebrale con esito letale. Questo è vero anche paragonando due zone della stessa area geografica caratterizzate da livelli di trasmissione della malaria molto diversi (**Fig.ma14**): paradossalmente, per un residente di un'area endemica è meglio vivere in una zona ad alta trasmissione piuttosto che in un'area a bassa trasmissione.

¹ Si definiscono **ipoendemiche** le aree in cui l'**indice splenico** (ovvero la percentuale di bambini che presentano splenomegalia) è tra 0 e 10%; **mesoendemiche** le aree in cui l'indice è tra 11 e 50%; **iperendemiche** dove l'indice è maggiore di 50% sia nei bambini che negli adulti; e infine **oloendemiche** sono le aree in cui l'indice splenico è maggiore di 75% nei bambini ma è relativamente basso negli adulti semi-immuni [da: de Carneri, *Parassitologia Generale e Umana*].



Trape JF & Rogier C. Parasitol Today 1996;12: 236-240.

Figura ma14. Incidenza annuale della malaria in due villaggi del Senegal a diverso livello di trasmissione di *Plasmodium falciparum*, misurato attraverso il numero di punture di Anofeli infettanti per persona per anno. Si nota che il villaggio Ndiop (sopra) subisce un numero minore di punture infettanti rispetto a quello di Dielmo (sotto): il risultato è che la malaria si presenta anche nelle fasce d'età più anziane, con conseguenti notevoli costi socio-economici. Invece nel villaggio Dielmo (sotto), dove la trasmissione di *Plasmodium* è dieci volte superiore, la malaria è concentrata nelle fascia d'età infantile, mentre adolescenti e adulti sono praticamente immuni.

Un problema relativamente recente è quello della **malaria importata**, causata dai traffici (prevalentemente commerciali, lavorativi e turistici) che legano i Paesi della fascia endemica ai Paesi temperati. Ad esempio, in Italia la malaria era endemica fino alla fine degli anni '40 del secolo scorso, ma alcuni anni dopo la fine della Seconda Guerra Mondiale l'opera di contenimento prima e di eradicazione poi (basata soprattutto sulla bonifica delle aree paludose e sulla distribuzione del chinino) ebbe un tale successo che l'Organizzazione Mondiale della Sanità dichiarò l'Italia un Paese "libero da malaria" alla fine degli anni '60. Ciononostante, in Italia si segnalano ancora in media un migliaio di casi di malaria l'anno, che però non sono autoctoni ma praticamente tutti importati da aree endemiche, soprattutto dall'Africa. La malaria è importata soprattutto come "caso", ovvero come persona che è stata infettata in un'area endemica e poi ha espresso la malattia nel suo Paese; molto più raramente è accaduto

che ad essere stato importato è stato invece il vettore, ovvero una femmina di Anofele con sporoziti nelle ghiandole salivari che può essere entrata ad esempio nell'abitacolo di un aereo partito da una zona endemica ed atterrato in un'area temperata, dove ha punto un residente che non si era mai spostato nelle aree a rischio.

DIAGNOSI. La diagnosi parassitologica del sospetto caso di malaria non presenta difficoltà di tipo tecnico: si tratta infatti di prelevare due gocce di sangue da un polpastrello mediante una semplice puntura con un ago e depositarle su vetrini da microscopia. Una delle gocce viene lasciata asciugare a temperatura ambiente e poi immersa in acqua distillata, che per differenza di pressione osmotica farà scoppiare i globuli rossi, lasciando un campo uniformemente rosa per la presenza dell'emoglobina, i nuclei dei globuli bianchi, le piastrine e gli eventuali parassiti. L'impronta viene poi colorata con colorante di Giemsa (pro-

nunciato "ghimsa") ed osservata al microscopio ottico a trasmissione in campo chiaro con obiettivo da 100X in immersione d'olio: questa tecnica è detta della **goccia spessa**. Essa permette di esaminare una grande quantità di sangue concentrata in un piccolo spazio, ma richiede perizia ed esperienza da parte dell'analista per la identificazione del parassita. L'altra tecnica, detta dello **striscio** o del **film sottile**, se ben eseguita permette l'identificazione della specie di Plasmodio, diagnosi differenziale cruciale, data la potenziale letalità del solo *P.falciparum*, che richiede una diagnosi

precisa ma soprattutto veloce. Consiste nello "strisciare" la seconda goccia di sangue, fissarla e colorarla in modo da avere sul vetrino uno strato monocellulare. Per le differenze morfologiche tra gli stadi ematici di *Plasmodium* riferirsi alle **Figure ma2-ma5** e **ma15-ma20**. Esistono anche svariati altri metodi diagnostici, per lo più indiretti, basati su reazioni antigene-anticorpo o su sonde molecolari, ma dato il costo estremamente basso e la elevata affidabilità dell'analisi di uno striscio di sangue o di una goccia spessa, questi vengono tutt'oggi usati con grande frequenza in tutto il mondo.

Esame microscopico di striscio di sangue: esempi.

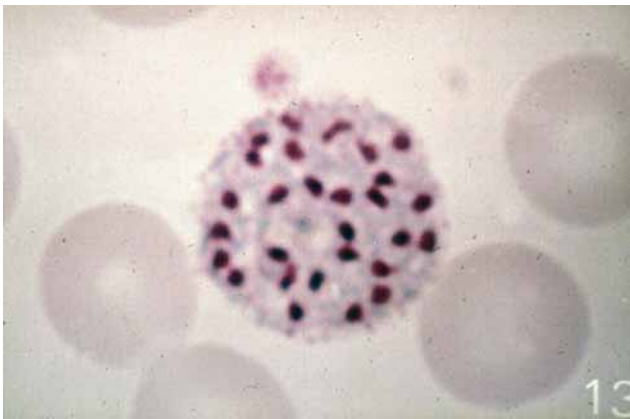


Figura ma15. Schizonte ematico maturo di *Plasmodium vivax*. Notare l'ingrandimento dell'eritrocita parassitato rispetto agli eritrociti sani vicini. Notare inoltre i 28 nuclei che produrranno altrettanti merozoiti.

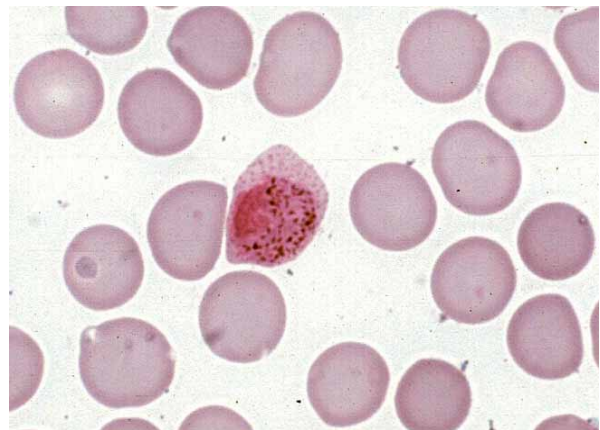


Figura ma16. Microgametocita (maschile) di *P.vivax*: notare la deformazione dell'eritrocita e le granulazioni di Schüffner. È un microgametocita perché il nucleo (a sinistra), singolo e rosso scuro, non è compatto come nel macrogametocita.

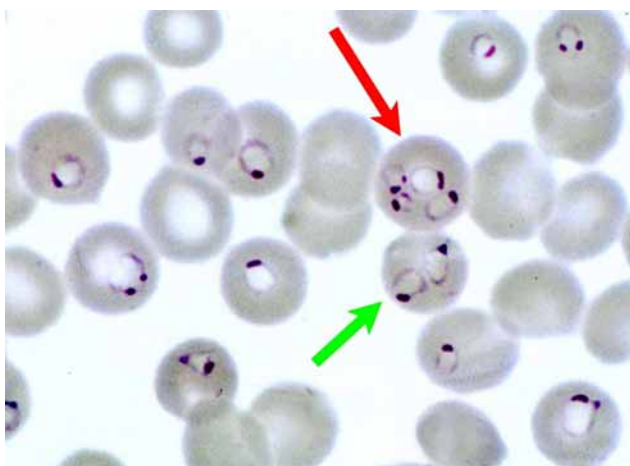


Figura ma17. Trofozoiti "ad anello" di *Plasmodium falciparum*. Nel campo sono visibili 30 eritrociti di cui ben 13 sono infetti, alcuni dei quali poliparassitati con 2 (freccia verde) o 4 (freccia rossa) trofozoiti: nella malaria perniziosa non è infrequente assistere a casi in cui circa il 50% degli eritrociti è infetto.



Figura ma18. Gametocita di *Plasmodium falciparum*. Notare la tipica forma "a banana". Sulla destra del parassita si intravede anche il bordo dell'eritrocita ospite, deformato e ormai svuotato di emoglobina. Una immagine di questo tipo è immediatamente diagnostica di terzana maligna.



Figura ma19. Trofozoite "a fascia" di *Plasmodium malariae*, agente della malaria quartana. Un aspetto di questo genere è tipico praticamente solo di *P. malariae*. Notare l'assenza di granulazioni nel globulo rosso che non è né deformato né ingrandito come in *vivax* e *ovale*.

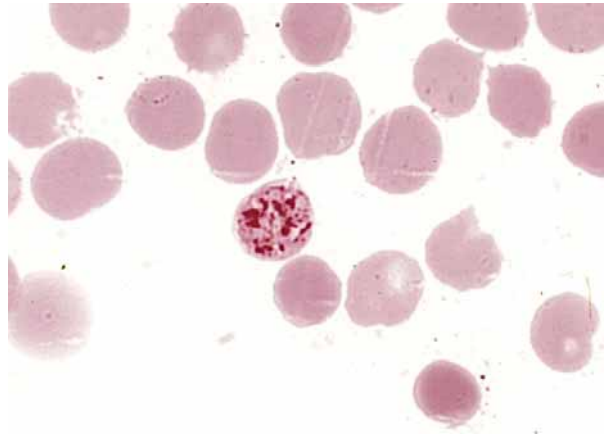


Figura ma20. Schizonte di *P. malariae*. Il globulo rosso infetto non è ingrandito o deformato come in *P. vivax* o *P. ovale*. Trovare schizonti di questo tipo nel circolo periferico suggerisce che non si tratti di *P. falciparum*, poiché con questa specie la schizogonia avviene nei capillari degli organi interni.

CONTROLLO. Dato che la malaria è una **antropoparassitosi** in teoria il controllo dovrebbe essere relativamente più semplice che nel caso di una zoonosi, perché potrebbe essere sufficiente curare l'Uomo per interrompere il ciclo ed eradicare la malattia. In realtà questo è in parte vero solo nel caso di aree a basso livello di trasmissione. Tentativi di spezzare il ciclo possono effettuarsi in diversi punti del ciclo stesso: si può ad esempio intervenire contro l'Anofele vettore (vedi più avanti), ad esempio con campagne di bonifica idraulica, ma solo dove la specie vettrice è legata alle aree paludose, che è quello che è avvenuto in Italia. In Africa i vettori più importanti di malaria sono invece legati alle pozze d'acqua piovana, e quindi la bonifica è qui improponibile; in zone dell'America Latina alcune specie vettrici sono invece legate alle zone di foresta e quindi, per assurdo, il disboscamento potrebbe essere d'aiuto. Naturalmente l'uso di insetticidi può essere di grande importanza, purché integrato con altre misure di controllo: in Italia il colpo di grazia alla malaria, che era già in via di scomparsa, fu dato dall'uso del DDT, portato dagli Americani alla fine della Seconda Guerra Mondiale.

Prevenzione. Senz'altro la protezione dalle punture degli Anofeli vettori può avere una grande rilevanza: zanzariere da letto o tende, possibilmente impregnate con insetticidi a bassa tossicità e media durata (piretro e

derivati di sintesi), purché ben mantenute, possono avere una grande efficacia. Lozioni repellenti per aspersione cutanea o per impregnazione di calze, giubbetti, ecc., possono ridurre significativamente il numero di punture.

Chemioprolifassi. Esistono diversi tipi di farmaci che possono essere usati per la profilassi antimalarica (Cloroquina, Proguanile, Meflochina, Doxiciclina, Atavaquone, ecc.), alcuni da utilizzare in combinazione, non tutti ugualmente efficaci contro la stessa fase ematica del parassita o in diverse parti del mondo né privi di indesiderabili effetti secondari. Il farmaco più tollerato, anche con somministrazioni prolungate nel tempo, era la **cloroquina**, uno schizonticida, contro cui però le varie specie di *Plasmodium* hanno rapidamente sviluppato mutanti resistenti, come purtroppo sta avvenendo gli altri farmaci.

Cura. Sfortunatamente, come nel caso della profilassi, per la terapia antimalarica non esiste un numero molto elevato di farmaci antimalarici: alcuni sono di origine naturale, come il classico **chinino**, tuttora usato per trasfusioni di sangue in malati gravissimi di perniziosa malarica, o l'**artemisinina**, estratta dalla *Artemisia annua*, una pianta di origine orientale, altri sono di sintesi (per lo più 4-aminochinolinici, antifolici, antifolinici o antibiotici, ecc.).

NON sono ancora disponibili vaccini.

CLASSE INSECTA – ORDINE DIPTERA – FAMIGLIA CULICIDAE

SOTTOFAMIGLIA ANOPHELINAE – GENERE ANOPHELES

I Plasmodi della malaria sono trasmessi all'Uomo esclusivamente da specie di zanzare appartenenti alla Sottofamiglia Anofelinae, genere *Anopheles*. Questo genere comprende più di 400 specie tra cui sono presenti le circa 60 specie vettrici accertate di malaria umana, ma di queste meno di 20 sono quelle maggiormente responsabili della trasmissione a livello mondiale. Per complicare la situazione tassonomica la maggior parte dei vettori di malaria appartengono a **complessi di specie gemelle**, ovvero gruppi di specie strettamente affini, morfologicamente molto simili, ma con una biologia a volte estremamente differenziata, includendo specie vettrici accanto ad altre, indistinguibili dal punto di vista morfologico, che invece non lo sono affatto. Il ciclo di vita degli Anofelini è quello tipico dei Culicidi (vedi **Lezione 12**), comprendendo obbligatoriamente lo sviluppo larvale **in acque stagnanti**, che però possono essere di tipo

molto diverso secondo la specie di *Anopheles*. Ad esempio, come si è accennato, i vettori di malaria in Italia erano alcune specie appartenenti al complesso Paleartico *Anopheles maculipennis*, il cui sviluppo larvale avveniva ed avviene in acque di tipo palustre (**Fig.ma21**). I vettori più importanti nell'Africa sub-Sahariana appartengono invece al complesso *An.funestus*, ma soprattutto al complesso *An.gambiae*, che, tra le sette specie di cui è composto, include due dei vettori di malaria più efficienti della fascia sub-Sahariana dell'Africa, uno dei quali è *An.gambiae* sensu stricto, il cui sviluppo larvale avviene in piccole raccolte d'acqua temporanea prive di vegetazione (pozzanghere d'acqua piovana, impronte di animali, ecc.), molte delle quali prodotte direttamente all'attività dell'uomo [impronte di pneumatici, scavi per recuperare argilla per costruzioni (**Fig.ma22**), disboscamento di aree forestali, agricoltura, ecc.].



Figura ma21. Orte: tipico focolaio larvale di *Anopheles maculipennis*, il complesso di specie gemelle che include le specie un tempo vettrici di malaria in Italia.



Figura ma22. Nigeria settentrionale: tipico focolaio larvale di *Anopheles gambiae* sensu stricto, uno dei membri del complesso di specie gemelle *An.gambiae*, il vettore di malaria più efficiente in Africa. I suoi focolai sono piccole raccolte d'acqua stagnante creata dalle precipitazioni durante la stagione delle piogge.

Ovviamente il comportamento degli Anofelini adulti è di enorme importanza per determinarne il ruolo vettore. È evidente che per trasmettere la malaria l'Anofelino:

- 1) deve essere fortemente **antropofago**, ovvero essere attirato da e pungere l'Uomo (è stato ripetutamente dimostrato in condizioni di laboratorio che molte specie sono perfettamente compatibili con lo sviluppo sporogonico dei Plasmodi umani, ma non hanno alcun ruolo vettore perché in condizioni naturali pungono esclusivamente i bovini, ad esempio);
- 2) deve essere **antropofilo**, ovvero essere propenso ad entrare nelle abitazioni per pungere (**endofilia**). Invece molte specie, sebbene fisiologicamente compatibili con lo sviluppo sporogonico di *Plasmodium*, non sono vettrici o lo sono molto scarsamente perché sono **esofile**, ovvero preferiscono pungere all'esterno delle abitazioni, rendendo così meno probabile la trasmissione del Protozoo all'Uomo;
- 3) deve essere presente nel territorio con **densità** significative: è ovvio e banale che è molto diverso avere due popolazioni di zanzare il cui **indice sporozoitico** (ovvero la percentuale di Anofeli con sporozoi di Plasmodio nelle ghiandole salivari, quindi infettanti per l'Uomo) sia, ad esempio, del 10% (quindi ogni 10 punture una sarà infettante), ma mentre una delle popolazioni ha una densità di 1.000 individui, l'altra l'ha di 100.000: nel primo caso le potenziali punture infettanti saranno solo 100 e nel secondo 10.000;
- 4) la popolazione di vettori deve essere **longeva**, perché sapendo, ad esempio, che il ciclo sporogonico di *Plasmodium falciparum* impiega 10 giorni a 30°C, se la specie di Anofele coinvolta nella trasmissione ha una longevità media da adulto di solo 9 giorni è evidente che questa specie

non potrà essere vettore efficace di malaria terzana maligna perché la maggior parte dei suoi individui morirà di vecchiaia prima che la sporogonia sia completata;

- 5) deve avere **abitudini** tali da mantenersi a temperature relativamente elevate, perché si è detto in precedenza che il ciclo sporogonico di *Plasmodium* è temperatura-dipendente: se l'Anofele si mantiene a temperature relativamente basse (per esempio inferiori a 22-23°C), la durata del ciclo sporogonico si allungherà molto, superando a volte 20 giorni, eccedendo quindi la longevità media del vettore (vedi punto 4). Uno dei fattori che hanno consentito di eradicare la malaria in Italia fu proprio che il nostro Paese è nella fascia climatica temperata, con inverni lunghi e freddi e con estati le cui notti, nelle zone rurali, possono avere temperature ben al di sotto dei 20°C, per cui la zanzara è soggetta a temperature medie piuttosto basse con corrispondente allungamento del ciclo sporogonico e conseguente minore probabilità di avere alla fine sporozoi infettanti nelle ghiandole salivari. Assodato questo punto, fu relativamente semplice arrivare alla conclusione che sarebbe stato molto importante "costringere" gli Anofeli vettori all'esterno delle abitazioni mediante zanzariere applicate alle finestre dei casali di campagna per far sì che durante la stagione di trasmissione le zanzare non potessero infettarsi con i gametociti di *Plasmodium* presenti nel sangue periferico dei malarici di quelle zone e che, seppure infettate, fossero sottoposte a temperature relativamente basse. Queste misure, unite alla bonifica delle aree paludose ed alla distribuzione gratuita del chinino, portarono all'eradicazione della malaria nel nostro Paese.

Fonti delle immagini: **ma1:** modificato da Gallego-Berenguer, 1969, *Tavole di Parassitologia Umana e Animale*, Giunti Bemporad Marzocco; da **ma2** a **ma5:** da Belding, 1961, *Textbook of Parasitology*, Appleton; **ma6, ma7:** Organizzazione Mondiale della Sanità, 1978; **ma8:** Prof. S.J. Upton, Kansas State University, www.ksu.edu/parasitology; **ma9-ma11, ma16-ma20, ma21-ma22:** Vincenzo Petrarca; **ma12:** Vincenzo Petrarca, ispirato a Belding, 1961. *Textbook of Parasitology*, Appleton; **ma13:** Gallup JL & Sachs JD, 1998, *The Economic Burden of Malaria*, Center for International Development at Harvard University, Cambridge, Massachusetts, USA; **ma14:** modificato da Trape JF & Rogier C, 1996, *Parasitology Today*, 12: 236-240; **ma15:** Prof. W. Peters, Dep. of Tropical Hygiene, Amsterdam, 1978. **Fonte delle note a piè di pagina:** Dizionario Enciclopedico De Agostini, 1981. **Ringraziamenti:** ringrazio la collega Prof.ssa Maria Angela Di Deco per la revisione del manoscritto.