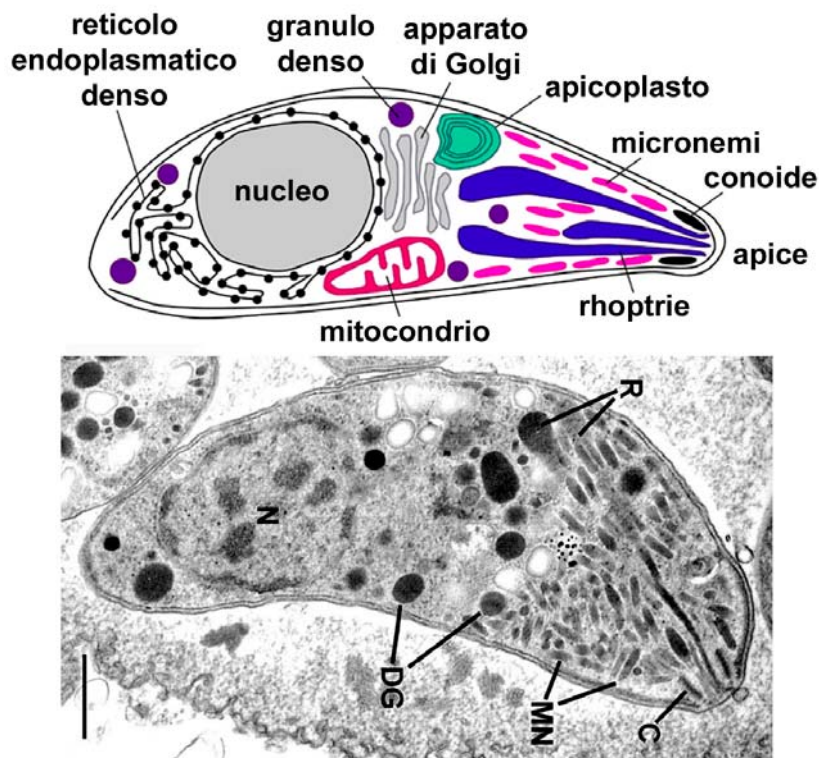


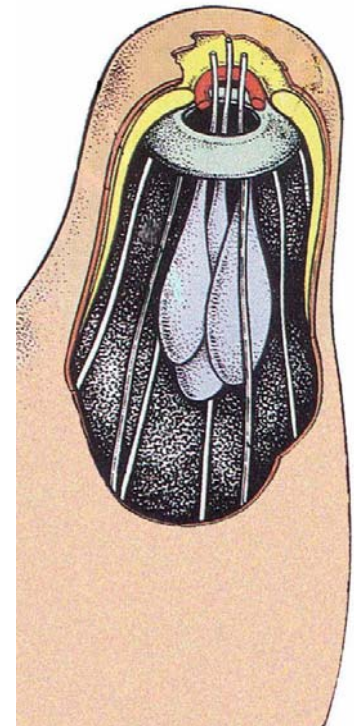
## Phylum Apicomplexa

Gli Apicomplexa costituiscono un Phylum di Protozoi che include alcune migliaia di specie, tutte endoparassite, per la maggior parte della loro vita intracellulari. Sono caratterizzati dall'assenza di organi di movimento (ciglia o flagelli) e dall'alternanza tra fasi di riproduzione asessuata (detta **schizogonia**) e fasi di riproduzione sessuata (**gamogonia**) che portano alla formazione di forme infettanti dette **sporozoiti**, che possono o meno essere incluse in “spore” (**sporogonia**). Sono aploidi durante tutto il loro ciclo vitale, salvo nella fase di zigote che comunque è di brevissima du-

rata. Il corpo cellulare, di frequente rigido e a forma di banana in molte fasi del ciclo vitale, è normalmente mononucleato e caratterizzato dalla presenza di un complicato apparato situato ad un polo del corpo cellulare detto **complesso apicale**, da cui il nome del Phylum (**Fig.co1**). Il complesso apicale è adibito all'ingresso del parassita nelle cellule del suo ospite: esso è composto da uno o due **anelli polari**, da un **conoide**, da **rhoptrie**, da **microtubuli subpellicolari** e da **micronemi** (**Fig.co2**); alcune delle funzioni svolte da questi organelli saranno descritte più avanti sotto *Toxoplasma gondii*.



**Figura co1.** Struttura schematica di un Apicomplexa (in alto). Si tratta di un tachizoite di *Toxoplasma gondii* (vedi più avanti). In basso la stessa cellula ripresa al microscopio elettronico a trasmissione (C= conoide; DG= granuli densi; MN= micronemi; N= nucleo; R= rhoptrie). La barretta in basso a sinistra è 1  $\mu$ m.



**Figura co2.** Rappresentazione schematica pseudotrifidimensionale del **complesso apicale** di un Apicomplexa. Sono visibili gli anelli polari, le rhoptrie ed i micronemi.

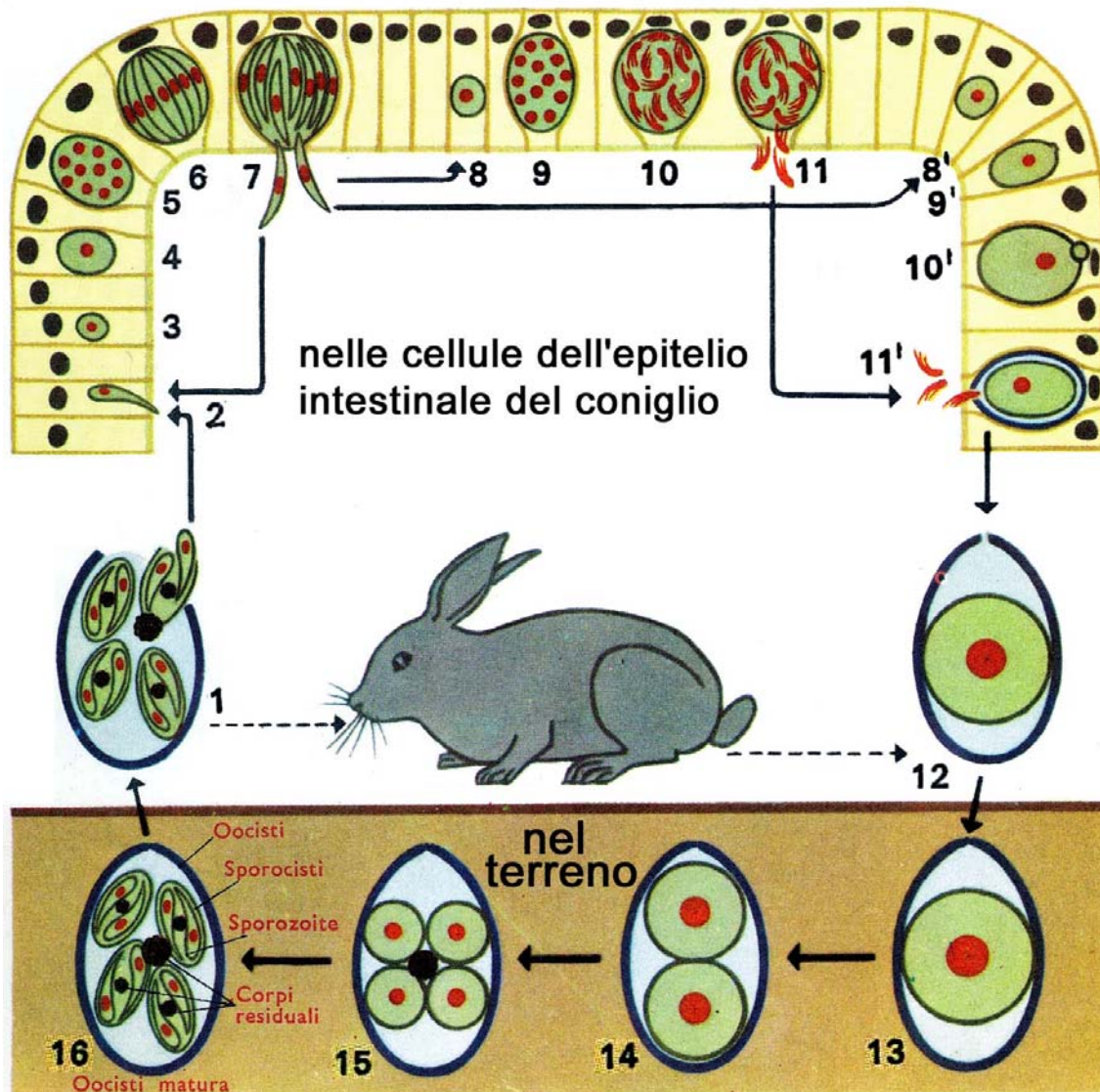
## Classe Coccidea: I "COCCIDI" e le Coccidiósi

I Coccidi sono Apicomplexa **monoxeni** parassiti generalmente delle cellule della mucosa intestinale sia di Invertebrati che di

Vertebrati. Alcune specie sono molto temute dagli allevatori di piccoli animali da reddito (prevalentemente pollame e conigli),

perché epidemie di Coccidiosi sono in grado di cancellare completamente l'allevamento stesso. Riporto qui di seguito dettagliatamente il ciclo di vita di *Eimeria perforans*, parassita intestinale dei Conigli, per-

ché esso servirà di base per i cicli successivi (*Cryptosporidium*, *Toxoplasma*, *Plasmodium*), molto simili anche se con peculiarità caratteristiche di ciascuna specie.



**Figura co3.** Ciclo di vita dell'Apicomplexa *Eimeria perforans*, parassita di Conigli.

Il **CICLO** (Fig.co3, [1-16]) inizia con l'ingestione da parte del Coniglio di cibo infetto da **ococisti** (spore: 20-30  $\mu\text{m}$  circa) del parassita contenenti 8 **sporozoiti** [1]. Questi, arrivati nell'intestino, escono dalla spora e penetrano ciascuno in una cellula della mucosa intestinale del Coniglio, utilizzando il complesso apicale [2]. Nella cellula si trasformano in **trofozoiti** subsferici che si nutrono della cellula stessa, ingrandendosi [3-4]. Segue poi la riproduzione asessuata (**schizogonia**) che inizia con la moltiplicazione del nucleo del parassita senza che avvenga subito la divisione citoplasmatica:

la forma multinucleata che deriva da questo processo si chiama **schizonte** [5-6]. La divisione cellulare avverrà in un secondo momento, portando alla formazione di numerosi **merozoiti** [7], che escono dalla cellula ospite ormai distrutta e penetrano in altre cellule intestinali per ripetere quanto già descritto [da 7 a 2]. Ad un certo punto, probabilmente a causa del subentrare della risposta immunitaria da parte del Coniglio, i merozoiti reagiscono e continuano ad entrare nella cellula della mucosa intestinale, ma non si moltiplicano più: una parte dei merozoiti darà origine a gameti "femminili"

(**macrogameti**), singoli, mononucleati ed ancora endocellulari [8'-10'], ed un'altra parte darà origine a gameti “maschili” (**microgameti**), mobili ed extracellulari [8-11], che individueranno la cellula infetta dal macrogamete, vi penetreranno ed un microgamete si fonderà con un macrogamete [11'] dando origine all'unica fase diploide (**zigote**) della vita del parassita. Da notare che i merozoiti presessuati “femminili” (**macrogametociti** – [8']) daranno origine ciascuno ad un solo macrogamete, mentre i merozoiti presessuati “maschili” (**microgametociti** - [8]) daranno origine ciascuno a numerosi microgameti. Lo zigote quindi comincia a ricoprirsi di una parete di protezione ed abbandona la cellula dell'epitelio intestinale del coniglio, cadendo nel lume intestinale [12]: in questa forma, ancora immatura, raggiungerà l'ambiente esterno con le feci diarroiche del Coniglio. Nel terreno, se vi saranno condizioni opportune di temperatura ed umidità, continuerà la maturazione all'interno della spora: una divisione

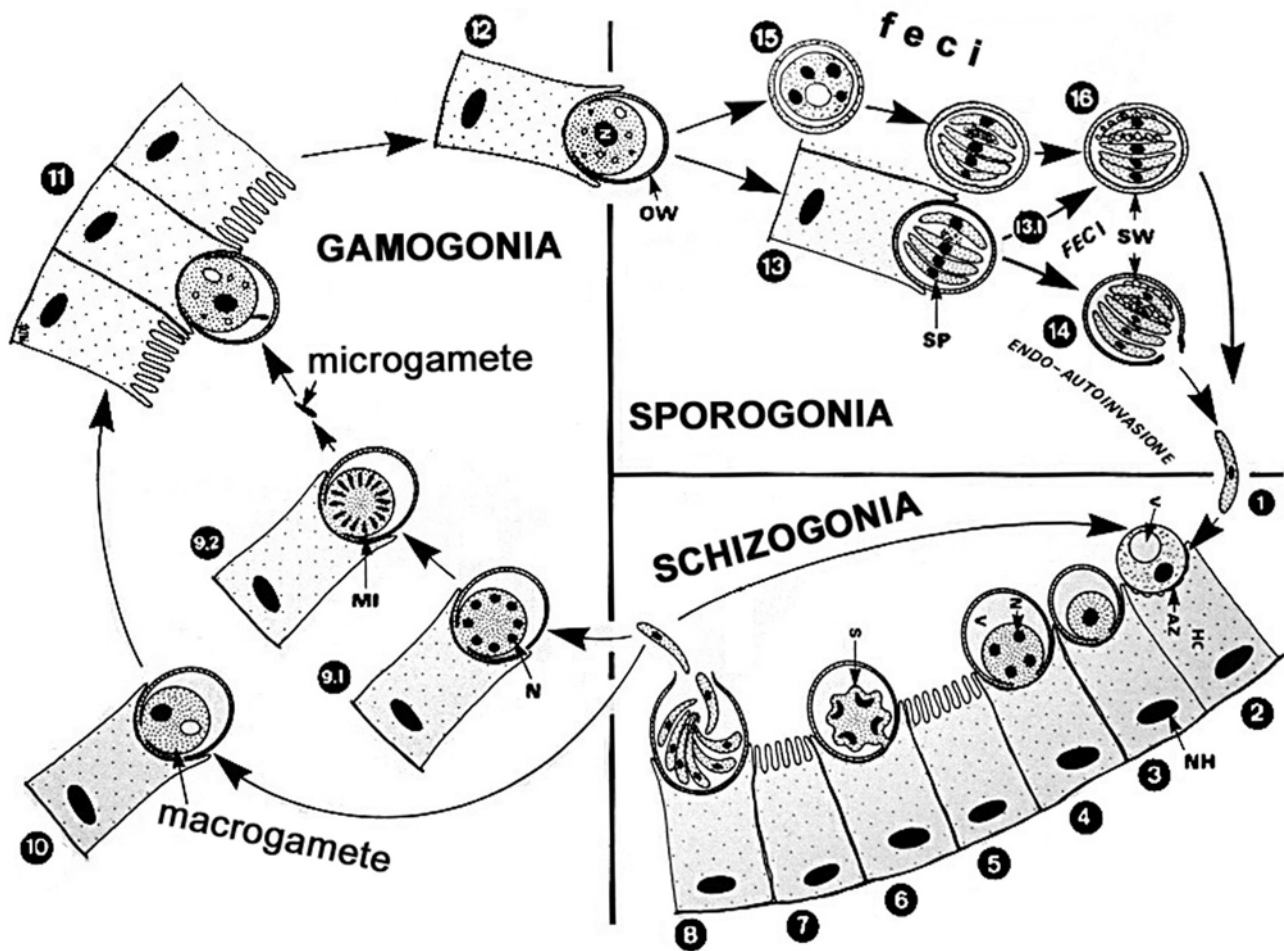
meiotica (riduzionale) porterà alla formazione di quattro cellule figlie aploidi [13-15], ciascuna delle quali si dividerà una sola volta (divisione equazionale), dando così alla fine della maturazione una **oocisti** [16], ovvero una spora protetta da una spessa e robusta parete protettiva contenente quattro **sporocisti** ciascuna delle quali contiene due **sporozoiti**. L'oocisti matura contamina il terreno ed il cibo dei conigli chiudendo in questo modo il ciclo [1].

Le Coccidiosi di interesse veterinario, causate da molte specie, per lo più appartenenti ai Generi *Eimeria* e *Isospora*, sono malattie intestinali molto gravi di Ruminanti, Suini, Lagomorfi, Uccelli, ecc., che possono avere effetti devastanti in allevamenti intensivi, a causa di precarie condizioni igieniche e della stretta promiscuità degli animali: il meccanismo di trasmissione oro-fecale del parassita monoxeno (con un ciclo quindi semplice e diretto) infatti facilita l'esplosione epidemica della malattia che colpisce soprattutto gli animali giovani.

## **Cryptosporidium hominis e parvum: le Criptosporidiosi**

**CICLO DI VITA (Fig.co4, [1-16]).** Le **oocisti sporulate** (ovvero già mature), di circa 5 µm di diametro [14, 16], contengono ciascuna **quattro sporozoiti** e sono eliminate dall'ospite infetto con le sue feci, in genere diarroiche. In questo modo le oocisti infettanti contaminano l'ambiente, e in particolare l'acqua ed i vegetali che ingeriti da un altro ospite fanno sì che le oocisti giungano nel suo intestino, dove si aprono liberando i 4 sporozoiti che entrano ciascuno in una cellula della mucosa intestinale [1]. Qui si accrescono a spese della cellula ospite [2-3] e si moltiplicano attraverso un processo **asessuato** [4-7] simile a quello descritto per *Eimeria perforans* (**schizogonia**), producendo **merozoiti** che invadono altre cellule dell'epitelio intestinale [8], e così via ripetendo il ciclo schizogonico molte volte, distruggendo un numero sempre crescente di cellule intestinali dell'ospite [8⇒2]. Quando questo comincia a reagire si innesca la fase **gamogonica**, che porta da una parte alla formazione di **macrogameti** (“femminili”),

singoli e statici nella cellula intestinale [10], e dall'altra a **microgameti** (“maschili”), mobili ed extracellulari [9], uno dei quali riuscirà a “fecondare” un macrogamete formando la fase transitoria diploide dello **zigote** [11]. Questo subisce una divisione meiotica producendo direttamente quattro sporozoiti (quindi senza la fase di sporocisti come in *Eimeria perforans*) e contemporaneamente formando una parete protettiva che porterà alla formazione dell'oocisti infettante [12-16]. Dato che la maturazione dell'oocisti (**sporulazione**) avviene all'interno dell'intestino dell'ospite infetto si può facilmente verificare l'**autoinfezione esterna**, ovvero l'ospite infetto può continuare a infettare sé stesso, ma anche l'**autoinfezione interna**, ovvero le oocisti schiudono nell'intestino senza neanche raggiungere l'ambiente con le feci diarroiche. Nel caso dell'autoinfezione interna le oocisti hanno una parete più sottile, mentre le oocisti destinate a raggiungere l'ambiente esterno hanno una parete più spessa e robusta.



**Figura co4.** Ciclo di vita di *Cryptosporidium*.

**MORFOLOGIA.** Quando gli sporozoi di *Cryptosporidium* entrano nell'enterocita si sistemano in una posizione intracellulare ma extracitoplasmatica: vale a dire che si situano immediatamente sotto la membrana plasmatica degli enterociti senza penetrare nel citoplasma col quale sono interfacciati mediante una struttura di scambio nutrizionale molto complessa ("Feeder Organelle") (Fig.co5 e co6). Questa localizzazione peculiare fa sì che *Cryptosporidium* sporga nel lume intestinale al di là della cellula che lo ospita. Si è già accennato alle dimensioni, che sono intorno ai 5 µm di diametro, molto piccoli quindi (meno di un globulo rosso), cosa che rende la diagnosi parassitologica abbastanza laboriosa.

**EPIDEMIOLOGIA.** *Cryptosporidium hominis* è un coccidio specifico dell'Uomo, mentre *C. parvum* è una parassita di ovini e bovini che però può infettare anche la nostra specie, costituendo quindi una **zoonosi**. La distribuzione geografica è ubiquitaria ed i nostri contatti con questo Protozoo sono estre-

mamente frequenti: più del 70% di un campione di donatori di sangue Italiani sono risultati sieropositivi per anticorpi anti-*Cryptosporidium*. È possibile che molte delle diarree fugaci che sporadicamente sopportiamo siano dovute all'infezione con una delle specie di questo Protozoo. Appare quindi evidente da quanto detto che l'infezione con *Cryptosporidium* in un ospite immunocompetente ed altrimenti sano non costituisce un problema medico di grande rilevanza, mentre l'infezione dà luogo a problemi molto seri in ospiti immunocopromessi o, peggio, immunosoppressi, quali ad esempio i malati di AIDS: infatti l'interesse in *Cryptosporidium* è cresciuto enormemente nell'ultimo quarto di secolo proprio a causa delle devastanti diarree che produce in questi malati. Per i motivi illustrati *Cryptosporidium* è da considerarsi quindi uno dei **parassiti opportunisti** di maggiore importanza.

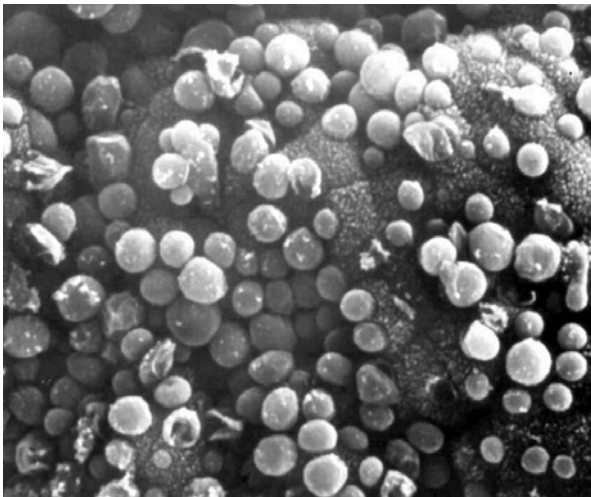
**PATOLOGIA/SINTOMI.** La patologia dipende molto dalla carica parassitaria, ovvero dal numero di oocisti ingerite: basse cariche

possono dare manifestazioni che possono passare anche inosservate o causare leggere diarree che si autorisolvono molto rapidamente; cariche maggiori possono causare profuse diarree acquose, enteriti con crampi addominali dolorosi, flatulenza e perdita di peso. Come si è accennato, la gravità e la durata dei sintomi sono legate all'immuno-competenza. In pazienti AIDS la parassitosi può produrre gravi diarree prolungate, con rilevantissime perdite di acqua e di elettroliti fino a poter portare l'ospite a morte.

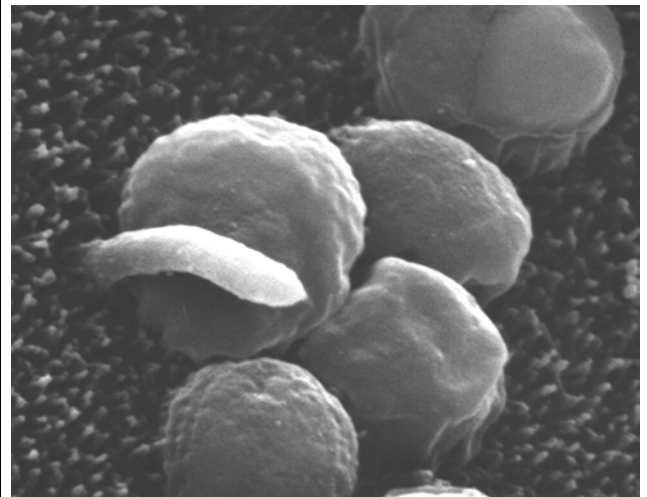
**DIAGNOSI.** Come si è detto la **diagnosi parassitologica** richiede una certa perizia ed esperienza, ma non presenta difficoltà insormontabili. Generalmente si tratta di un comune esame delle feci alla ricerca delle oocisti, utilizzando però concentrazioni del materiale o colorazioni particolari, in genere negative, che cioè colorano lo sfondo e non i

Protozoi, i quali appaiono quindi chiari su uno sfondo molto più scuro (**Fig.co7, co8**). Esistono da non molto tempo anche tests molecolari basati su PCR.

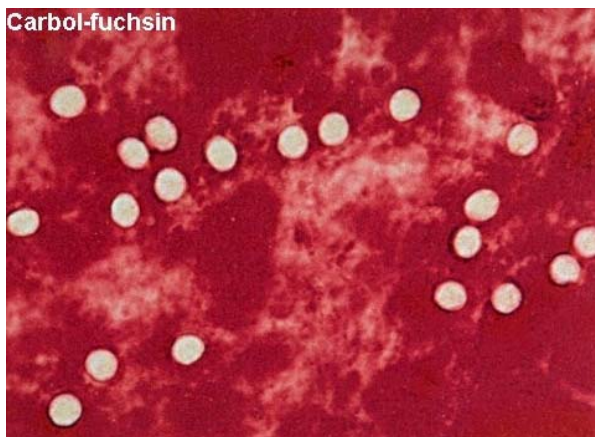
**Controllo.** Dato il meccanismo di trasmissione di tipo oro-fecale, appare ovvio che una corretta prevenzione prevede uno stretto controllo igienico dell'ambiente allo scopo di evitare la fecalizzazione sia umana che animale; è particolarmente da curare la fonte dell'approvvigionamento di acqua potabile, uno dei veicoli più frequenti delle oocisti: in più di un caso si sono avute epidemie localizzate di Criptosporidiosi dovute a rotture delle condotte fognarie che decorrevano accanto a tubazioni per l'acqua potabile. Allo stato attuale non esistono cure farmacologiche, sebbene la paromicina abbia una qualche efficacia.



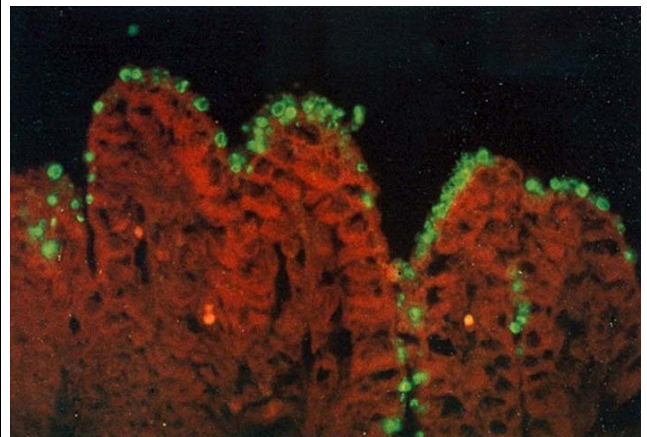
**Figura co5.** *Cryptosporidium baylei*, parassita intestinale dei polli. Si tratta di una infezione particolarmente pesante, come si può apprezzare dal gran numero di parassiti presenti. Microscopia elettronica.



**Figura co6.** Ancora *C. baylei*. In questa foto in microscopia elettronica è possibile vedere a sinistra un merozoita mentre sta entrando in un enterocita del pollo. In alto a destra si intravede nella parte bassa del parassita il "Feeder Organelle".



**Figura co7.** Uno dei tipi di colorazioni invertite che permettono di evidenziare molto bene le oocisti di *Cryptosporidium parvum*.

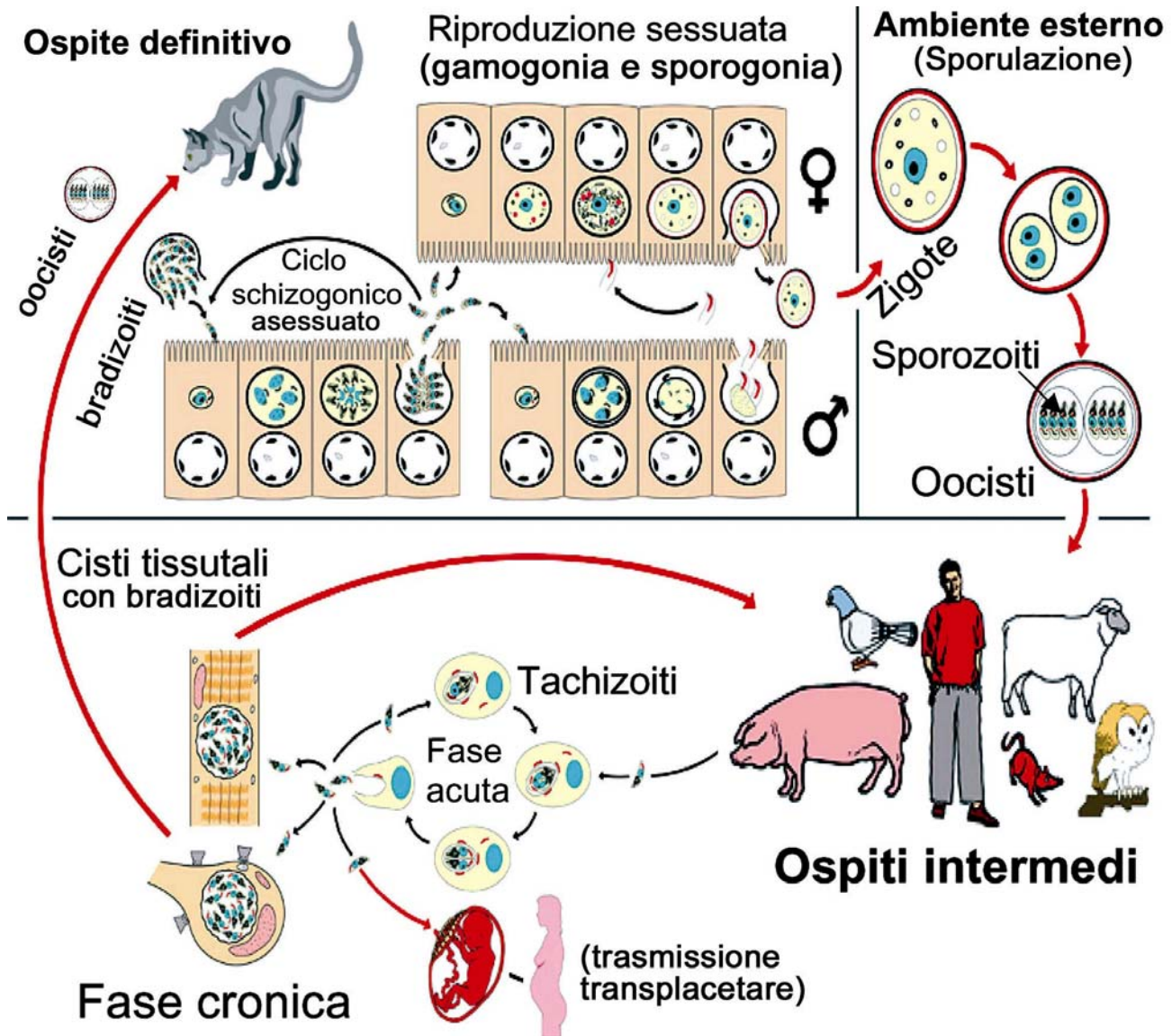


**Figura co8.** Ancora *C. parvum*. Immunofluorescenza su biopsia enterica. Si può apprezzare la posizione periferica dei parassiti (verdi) sui villi intestinali.

## **Toxoplasma gondii** [malattia: **Toxoplasmosi**]

*Toxoplasma gondii* è un Apicomplexa appartenente alla Famiglia Sarcocystidae, di grande diffusione a livello mondiale e di notevole importanza dal punto di vista me-

dico per le potenziali gravissime patologie che può produrre in alcune fasce a rischio molto delicate, tra cui le donne in stato di gravidanza e gli immunocompromessi.



**Figura co9.** Ciclo di vita di *Toxoplasma gondii*.

**CICLO DI VITA (Fig.co9).** *Toxoplasma gondii* è un parassita intracellulare capace di invadere praticamente ogni tipo di cellula nucleata degli animali a sangue caldo. Concettualmente il ciclo non è differente da quello dei Coccidi monoxeni che abbiamo esaminato in precedenza, ma, contrariamente ai Coccidi propriamente detti, *Toxoplasma* ha un **ciclo dixeno** legato al canivorismo: l'**ospite definitivo** è il **gatto**, in

cui si svolge la riproduzione sessuata, mentre possono ricoprire il ruolo di ospiti intermedi tutti gli animali omeotermi (Uccelli e Mammiferi: particolarmente piccoli Roditori e Passeracei), sia le potenziali prede del gatto che non, nei quali *T. gondii* ha fasi riproduttive di tipo asessuato. Il ciclo di *T. gondii* comprende vari stadi di sviluppo, tra cui quattro diverse forme invasive: lo **sporozoita**, il **tachizoite**, il **bradizoite** ed il **me-**

**rozoita.** Mediante il complesso apicale tutte queste forme sono in grado di invadere le cellule dell'ospite, insediandosi nel citoplasma all'interno di un **vacuolo parassitoforo**, nel quale il parassita si moltiplica.

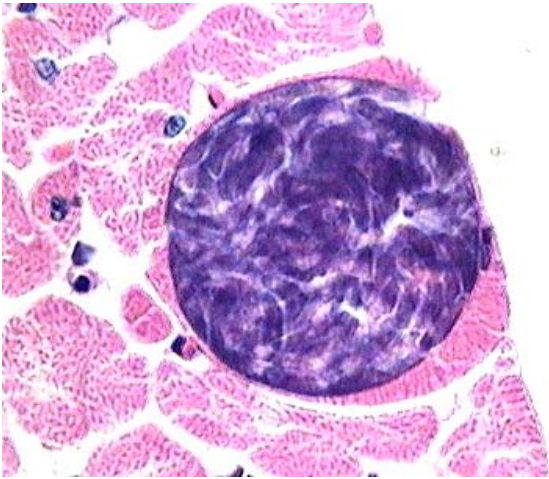
Il **GATTO, OSPITE DEFINITIVO**, si può infettare in due modi: o a) mediante l'ingestione di tessuti (prevalentemente muscoli e organi interni) delle sue prede (topi o piccoli uccelli) contenenti le **pseudocisti tissutali** ripiene di **bradizoiti** (**Fig.co10 e co11**), o b) attraverso l'ingestione di **oocisti** (**Fig.co12**) che contaminano l'ambiente (acqua e polvere, ad esempio). Giunti nell'intestino del gatto i parassiti fuoriusciti dalle pseudocisti (sotto forma di bradizoiti) o dalle oocisti (sotto forma di sporozoit) invadono le cellule dell'epitelio della mucosa intestinale (enterociti). All'interno dell'enterocita, dopo una fase di accrescimento sotto forma di **trofozoiti**, sono soggetti ad una moltiplicazione asessuata sotto forma di **schizonti**, contenenti da 4 a 32 **merozoiti**, i quali abbandonano l'enterocita ormai consumato e infettano altri enterociti dando luogo a nuovi **cicli schizogonici** (asessuati). In seguito a stimoli non ancora definiti, ma verosimilmente legati alla risposta di difesa dell'ospite felino, alcuni merozoiti si differenziano in gameti femminili (**macrogameti**), che rimangono nell'enterocita, e maschili (**microgameti**), che abbandonano l'enterocita in cui si sono formati e, attirati dal macrogamete, entrano nell'enterocita da questo parassitato: avviene quindi la fusione tra microgamete e macrogamete (fecondazione). Con la fecondazione si forma uno **zigote**, unico stadio diploide del parassita, che è invece aploide in tutte le altre fasi del suo ciclo vitale come tutti gli altri Apicomplexa. Lo zigote successivamente si differenzia in **oocisti** immatura mononucleata, la quale, circondata da una robusta parete, abbandona l'enterocita, viene liberata nel lume intestinale e viene quindi eliminata con le feci del gatto.

Nell'ambiente esterno ciascuna oocisti va incontro ad un processo di maturazione (**sporulazione**), che prevede due repliche del DNA (una riduzionale: meiosi, ed una equazionale: mitosi) e la formazione, all'interno della parete cistica, di due **spo-**

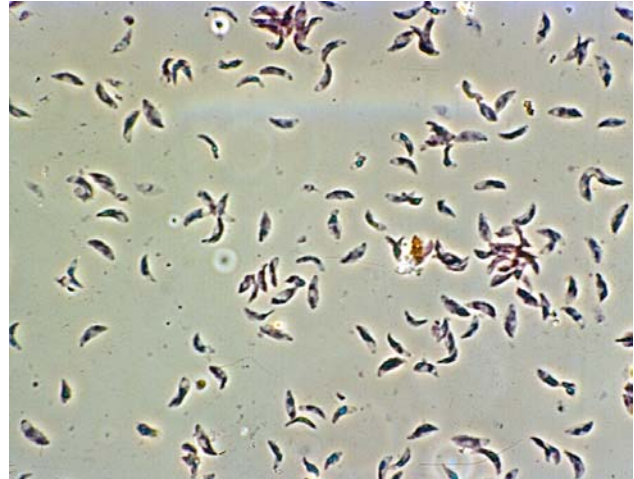
**rocisti**, ciascuna contenente quattro **sporozoiti** infettanti. Alla fine del processo di maturazione (che può durare anche meno di 24 ore) l'oocisti infettante contiene quindi complessivamente 8 sporozoiti. Le oocisti possono rimanere vive ed infettanti nell'ambiente anche per più di un anno.

Ingerite da uno dei possibili **OSPITI INTERMEDI** le oocisti giungono nell'intestino dove schiudono liberando gli sporozoiti. Questi, penetrati negli enterociti, si differenziano in un nuovo stadio invasivo, il **tachizoite** (**Fig.co1**), caratterizzato da una alta velocità di replicazione per **endodugenia**, un processo asessuato che porta alla formazione di due organismi figli dentro la cellula madre (**fase acuta**). I tachizoiti si disseminano in tutto l'organismo per via ematica e linfatica (per lo più parassitando i macrofagi ed altri globuli bianchi) ed invadono le cellule di numerosi tessuti ed organi (**Fig.co13**). Questa fase, della durata di 1-2 settimane, induce una forte risposta immunitaria sia umorale che cellulo-mediata, che infine elimina le manifestazioni cliniche dell'infezione. Va però notato che in alcuni distretti, in particolare nel sistema nervoso centrale e nella muscolatura scheletrica, la pressione del sistema immunitario induce i tachizoiti a differenziarsi in **bradizoiti**. Questi sono caratterizzati da una bassa velocità di replicazione e restano quiescenti all'interno di **pseudocisti tissutali** per tutta la vita dell'ospite (**fase cronica**). Queste pseudocisti, del diametro da 20 a 200 µm, sono circondate da una parete elastica che deriva da una modificazione della membrana del vacuolo parassitoforo e contengono fino a diverse centinaia di parassiti. La formazione della pseudocisti è la conseguenza dell'equilibrio che si instaura tra parassita ed ospite e l'infezione da questo punto in poi decorre senza la comparsa di segni o sintomi clinici.

Se i tessuti infetti vengono ingeriti da un carnivoro (Uomo incluso) le pseudocisti in essi contenute liberano nell'intestino il proprio contenuto di bradizoiti, i quali, similmente agli sporozoiti, invadono gli enterociti e si differenziano in tachizoiti, innescando la fase acuta dell'infezione.



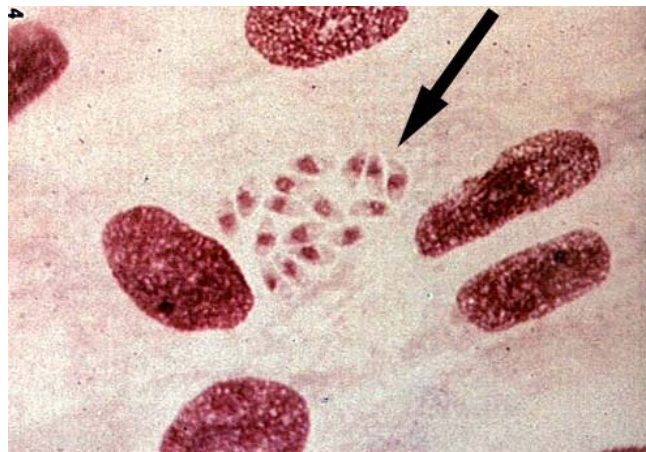
**Figura co10.** Pseudocisti di *Toxoplasma gondii* in muscolo di ratto. Il diametro è circa 70  $\mu\text{m}$ . Sono visibili i numerosi bradizoiti all'interno.



**Figura co11.** Bradizoiti di *Toxoplasma gondii* isolati da una pseudocisti cerebrale di topo.



**Figura co12.** Oocisti matura di *Toxoplasma gondii*, dopo il processo di sporulazione. Sono evidenti le due sporocisti all'interno, ciascuna con 4 sporozoiti, meno evidenti. Le dimensioni sono circa 10x12  $\mu\text{m}$ .



**Figura co13.** Tachizoiti di *Toxoplasma gondii* in moltiplicazione asessuata all'interno del citoplasma della cellula parassitata (freccia). Il tachizoite misura 7x12  $\mu\text{m}$ .

**MORFOLOGIA.** Sporozoiti, tachizoiti, me-rozoiti e bradizoiti condividono la tipica struttura dell' Apicomplexa generico: piuttosto rigida ed a forma di banana con una estremità più acuta e l'altra più ottusa. Le dimensioni delle varie forme sono state esposte durante l'illustrazione del ciclo di vita o nelle didascalie delle immagini.

**EPIDEMIOLOGIA.** Nell'Uomo l'infezione da *T. gondii* segue principalmente tre **vie di trasmissione**: **1)** consumo di carne cruda o poco cotta (soprattutto suina, ovina e bovina) contenente pseudocisti tissutali; **2)** ingestione di oocisti disseminate nell' ambiente con le feci del gatto, attraverso il consumo di verdure crude, frutta o acqua

contaminate dalle oocisti; **3)** trasmissione al feto di tachizoiti per via transplacentare, quando una madre priva di anticorpi anti-toxoplasma contrae l'infezione durante la gestazione. Sebbene in misura minore, la trasmissione può avvenire anche in seguito a trapianti di organi contenenti le cisti tissutali o per via trasfusionale con sangue infetto da tachizoiti. La Toxoplasmosi è cosmopolita, con prevalenze ed incidenze molto diverse da Paese a Paese, per lo più a causa delle diverse abitudini alimentari e della diversa intensità di rapporti con i gatti domestici. La prevalenza della Toxoplasmosi ad esempio è maggiore in Francia che in Inghilterra, perché nella prima c'è un maggior uso di salumi freschi, mentre nella



seconda l'abitudine di cuocere a fondo le carni è più diffusa. In Italia la sieroprevalenza in alcune città è molto elevata (ad esempio a Roma, città di gatti), ma negli ultimi anni in molte località (Roma inclusa) si è assistito ad una rilevante tendenza alla diminuzione della prevalenza. Dato che il rapporto gatto--*Toxoplasma* è estremamente antico, in pratica quando il felino, soprattutto se cucciolo, si infetta eliminerà oocisti con le feci per meno di due settimane, dopo di che il suo sistema immunitario bloccherà completamente il Protozoo, ma in quelle due settimane circa il gattino avrà prodotto circa 100 milioni di oocisti.

**PATOLOGIA/SINTOMI.** La toxoplasmosi umana presenta quadri patologici molto eterogenei, che possono essere ricondotti a tre diverse forme cliniche della malattia: la toxoplasmosi **acquisita**, **congenita** o **di riattivazione**.

**Toxoplasmosi acquisita:** è la forma che un individuo sieronegativo contro *T. gondii* contrae in seguito a ingestione di oocisti o pseudocisti tissutali. Nella maggioranza dei soggetti immunocompetenti l'infezione è asintomatica, salvo causare una linfadenopatia<sup>1</sup> associata a febbre e ad alterazioni dei parametri biologici simile a quella della mononucleosi<sup>2</sup>. Sia nei casi asintomatici che in quelli sintomatici *Toxoplasma* induce una elevata risposta immunitaria che pone termine alla **fase acuta** dell'infezione dando molte volte avvio alla **fase cronica**, conseguente alla formazione delle pseudocisti tissutali dormienti, poco immunogeniche. Un recente studio di un parassitologo dell'Università di Praga ha messo in evidenza che in un campione di un centinaio di donatori di sangue quelli sieropositivi per *Toxoplasma* (circa il 60%) presentavano reazioni rallentate ad una serie di stimoli standardizzati; inoltre in un altro campione di circa 150 persone coinvolte in incidenti stradali la frequenza dei sieropositivi per *Toxoplasma* era significativamente maggiore rispetto al campione di controllo

<sup>1</sup> **Linfadenite:** infiammazione dei linfonodi.

<sup>2</sup> **Mononucleosi:** malattia infettiva virale caratterizzata da linfadenite e splenomegalia (ipertrofia della milza):

estratto a caso dalla popolazione generale. Queste due osservazioni non appaiono strane se si considera che gli ospiti intermedi normalmente prede dei gatti con pseudocisti del Protozoo nel cervello mostrano una minore reattività nervosa, sono più lenti e confusi e cadono più facilmente preda del felino rispetto ai loro simili non infetti. Il fenomeno è verosimilmente indotto dal parassita che così aumenta le sue probabilità di continuare il ciclo di vita.

**Toxoplasmosi congenita:** è la forma che può colpire l'embrione o il feto quando una donna sieronegativa acquisisce l'infezione, anche se asintomatica, durante la gravidanza. Attraversata la placenta, i tachizoiti provenienti dal circolo sanguigno materno possono determinare quadri clinici di varia gravità. La probabilità di eventuali danni fetali gravi sono maggiori se il contagio si verifica nei primi mesi di gestazione e progressivamente minori con il progredire della gravidanza. Le manifestazioni cliniche della toxoplasmosi congenita vanno dall'aborto spontaneo, tanto più probabile se l'infezione avviene nel primo trimestre di gravidanza, a calcificazioni intracraniche, idrocefalia<sup>3</sup> e lesioni oculari. Alla nascita il bambino infettato congenitamente può rivelare alterazioni motorie, ritardi mentali, epilessia e cecità, oppure risultare del tutto normale, ma andare incontro a manifestazioni cliniche, frequentemente corioretiniti<sup>4</sup>, nel corso dell'età giovanile ed adulta.

**Toxoplasmosi di riattivazione:** tipica dei soggetti immunodepressi (HIV-positivi, individui sottoposti a trapianti o chemioterapie anti-tumorali) ed è molte volte indicativa di AIDS. La toxoplasmosi di riattivazione è causata dai parassiti contenuti nelle pseudocisti tissutali i quali, differenziatisi da bradizoiti a tachizoiti, in assenza della

<sup>3</sup> **Idrocefalia:** versamento di liquido cefalo-rachidiano in eccesso all'interno della cavità dei ventricoli cerebrali (idrocefalo interno) oppure intorno al cervello, nello spazio meningeo (idrocefalo esterno); quest'ultimo può spesso provocare aumento di volume del cranio.

<sup>4</sup> **Corioretinite:** Retinite complicata da coroidite (infiammazione della corioide dell'occhio – **corioide:** membrana sottile dell'occhio situata tra la sclerotica e la retina).

controllo immunitario proliferano incontrollati, determinando quadri clinici assai gravi, come polmoniti ed encefaliti anche fatali. In questo senso *Toxoplasma gondii* è da considerare un importante **parassita opportunista**.

**DIAGNOSI.** Non esistono metodi diagnostici parassitologici, per la difficoltà di individuare il tessuto o le cellule infette. La diagnosi della toxoplasmosi pertanto è basata su metodi sierologici, quindi indiretti, oppure diretti come la ricerca del DNA del parassita in fluidi biologici (liquido amniotico e cefalorachidiano<sup>5</sup>) tramite tecniche molecolari generalmente basate su PCR. Un limite rilevante non completamente superato dei metodi sierologici riguarda la difficoltà di datare con precisione l'epoca dell'infezione, a causa della lunga persistenza degli anticorpi IgM anti-toxoplasma. Questo fenomeno ha importanti implicazioni durante la gravidanza, in quanto non permette di associare un alto titolo di IgM materne ad una infezione recente o in corso. Per ovviare a questo problema, ci si avvale di test sierologici in cui viene misurata l'avidità delle IgG anti-toxoplasma, il cui valore, relativamente basso a breve distanza dall'infezione, aumenta gradualmente nel tempo.

**TRATTAMENTO E CONTROLLO. Cura:** la combinazione di pirimetamina, sulfadoxina e acido folinico per 4-6 settimane è quella più utilizzata. L'antibiotico spiramicina invece è il farmaco di scelta per il trattamento durante la gravidanza per ridurre il rischio di passaggio transplacentare dei tachizoiti. Conoscendo i due meccanismi di trasmissione all'Uomo, la **prevenzione** consiste ovviamente nella limitazione del consumo di carni poco cotte o crude (salumi suini, prevalentemente) e nell'evitare l'ambiente contaminato dalle feci dei gatti. Si può dire che la persona a maggiore rischio potrebbe essere ad esempio una donna sieronegati-

va, incinta da meno di tre mesi, che consumi molti salumi, che abbia in casa gatte con cuccioli infetti e che pulisca la lettiera degli animali personalmente. Il fatto che il gatto non esca mai di casa non vuol dire che l'animale non possa infettarsi con *Toxoplasma*: infatti anche il gatto più domestico e meno esperto può catturare sul terrazzo di casa un passero malato infetto da pseudocisti con bradizoiti. Comunque, come norma cautelativa è sempre meglio nutrire il proprio gatto domestico con carni cotte o in scatola piuttosto che fresche.

## Appendice

**Invasione.** Per molti aspetti, quanto segue può essere considerato valido anche per tutti gli altri Apicomplexa: i Coccidi propriamente detti ed anche i Plasmodi della malaria, trattati nel prossimo capitolo.

Come si è detto gli Apicomplexa sono parassiti endocellulari e sono pertanto dotati di strutture necessarie per il riconoscimento e l'invasione della cellula ospite. A differenza di quanto avviene per *Leishmania* e *Trypanosoma* (vedi), gli Apicomplexa penetrano nelle cellule dell'ospite con un processo attivo, dipendente dalla loro capacità di spostarsi su un substrato con un particolare movimento definito *gliding* (“scivolamento”). Nel processo di invasione della cellula svolge un ruolo fondamentale il **complesso apicale**, l'insieme di strutture citoscheletriche e vescicolari presente in tutti gli stadi invasivi degli Apicomplexa. Come mostrato in **Figure co1** e **co2**, in *Toxoplasma gondii* la componente citoscheletrica è costituita dal **conoide**, che è in grado di estroflettersi durante l'invasione, mentre la componente vescicolare è costituita dai **micronemi** e dalle **rhoptrie**, organelli che secernono il proprio contenuto apicalmente. Localizzati più posteriormente, ma comunque coinvolti nel processo di invasione, vi sono i **granuli densi**, una ulteriore classe di vescicole secretorie. Dopo il riconoscimento della cellula bersaglio da parte dei tachizoiti, che sono lo stadio meglio conosciuto di *T. gondii*, gli organelli secretori rilasciano il loro contenuto sequen-

<sup>5</sup> **Liquido cefalo-rachidiano:** liquido contenuto nello spazio subaracnoideo, tra l'aracnoide e la pia madre, e che bagna tutto l'asse cerebro-spinale svolgendo un'azione meccanica di sostegno e intervenendo in certi processi biochimici del tessuto nervoso. La quantità totale di liquido cefalo-rachidiano è di circa 150 cm<sup>3</sup>.

zialmente, dapprima i micronemi, seguiti da rhoptrie e granuli densi. Il processo di invasione richiede 15-20 secondi, culminando nella formazione di un **vacuolo parassitoforo** all'interno del quale il parassita si moltiplica asessualmente. Il vacuolo parassitoforo, che deriva dall'invaginazione della membrana plasmatica, non si acidifica e non si fonde con i lisosomi. I micronemi contengono un corredo di proteine adesive le quali, esposte sulla superficie del tachizoite, contribuiscono alla formazione della cosiddetta “giunzione mobile”. Questa struttura, che crea un contatto tra la membrana del parassita e quella della cellula ospite, dipende dall'interazione specifica tra domini adesivi delle proteine dei micronemi e ligandi espressi sulla membrana della cellula bersaglio. La secrezione del contenuto dei micronemi è un processo stimolato dalla mobilizzazione delle riserve di  $Ca^{++}$  intracellulare del parassita, con conseguente aumento della concentrazione intracellulare di questo ione. Successivamente ai micronemi, sono le rhoptrie a rilasciare il proprio contenuto di proteine, per lo più coinvolte nella modificazione del vacuolo parassitoforo. Una delle proteine delle rhoptrie (ROP2), inserita nella membrana del vacuolo parassitoforo, riconosce ligandi sulla superficie dei mitocondri della cellula ospite, reclutandoli attorno ai parassiti. Una volta concluso il processo invasivo e ristabilita la continuità della membrana plasmatica della cellula ospite, inizia la secrezione dei granuli densi, coinvolti nella formazione di un sistema tubulo-vescicolare che mette

in comunicazione la membrana del parassita con quella del vacuolo parassitoforo, probabilmente per permettere a *T. gondii* di acquisire nutrienti dal citoplasma della cellula ospite.

Infine qualche informazione sull'organello degli Apicomplexa chiamato **apicoplasto**: si tratta della traccia di un antichissimo rapporto simbiotico mutualistico tra gli Apicomplexa ed un'alga, addirittura. Quando si è iniziato a studiare il genoma degli Apicomplexa si è presto messo in evidenza che questi sono dotati di tre tipi di DNA: nucleare, mitocondriale ed una sequenza di 35 kb di DNA extracromosomico, contenuto in un organello circondato da 4 membrane, localizzato adiacente al nucleo del parassita (**Fig.co1**). L'analisi di sequenza di questo DNA ha mostrato una grande affinità con il genoma dei cloroplasti. Dato che l'apicoplasto (nome assegnato a questo organello) è presente in tutti gli Apicomplexa, questo suggerisce che esso deve giocare un ruolo cruciale nel metabolismo del parassita, forse in quello dei lipidi. La presenza di questo organello di origine vegetale ha destato una grande attenzione nei ricercatori, a parte per l'interesse simbiotologico ed evolutivistico del fenomeno, ma anche perché esso potrebbe diventare un bersaglio per farmaci destinati al controllo di *Toxoplasma* e soprattutto *Plasmodium*: recentemente un ricercatore, scherzando, ha detto che se questo si realizzasse, in futuro si potrebbe combattere la malaria con i defoglianti...

**Fonti delle immagini.** **Fig.co1:** modificato, da: Ajioka et al, 2001, *Toxoplasma gondii* genomics: shedding light on pathogenesis and chemotherapy. Expert Reviews in Molecular Medicine, Cambridge University Press; **Fig.co2:** ignoto; **Fig.co3:** modificato, da: Gallego Berenguer, 1969, *Tavole di Parassitologia Umana e Animale*, Giunti Bemporad Marzocco; **Fig.co4:** modificato, da: Mehlhorn, 1998, *Parasitology in Focus*, Springer-Verlag; **Fig.co5** e **co6:** W.L. Current, [www.ksu.edu/parasitology](http://www.ksu.edu/parasitology); **Fig.co7** e **co8:** Rondanelli & Scaglia, 1993, *Atlante dei Protozoi Umani*, Masson (molto costoso, ma probabilmente il migliore in Italia); **Fig.co9:** modificato, da: Ferguson, 2002, *Toxoplasma gondii* and sex: essential or optional extra? Trends in Parasitology, 18: 355-359; **Fig.co10:** <http://www.ufrgs.br/parasite/Imagensatlas/Protozoa/Toxoplasma.htm>; **Fig.co11:** Vincenzo Petrarca; **Fig.co12:** S. Upton, [www.ksu.edu/parasitology](http://www.ksu.edu/parasitology); **Fig.co13:** modificato, da: Ash & Orihel, 1980, *Atlas of Human Parasitology*, American Society of Clinical Pathologists Press. **Fonte delle note a piè di pagina:** Rizzoli-Larousse, 1968, *Enciclopedia Universale*, Rizzoli Editore. **Ringraziamenti.** Ringrazio, in particolare per l'Appendice, il Prof. Furio Spano (ricercatore dell'Istituto Superiore di Sanità, esperto di *Cryptosporidium* e *Toxoplasma*), la Dott.ssa Valeria Messina e la Prof.ssa M.A. Di Deco.