

Il vaccino contro la malaria: da sogno a realtà

Un percorso lungo e non ancora concluso

Massimo Farneti
Pediatra, Ravenna

Introduzione

La malaria

La malaria è una malattia potenzialmente mortale trasmessa alla specie umana attraverso le punture di alcune zanzare (*Anopheles*) femmine infette, principalmente nei Paesi tropicali. L'infezione è causata da un parassita (*Plasmodium*) e non si diffonde da persona a persona.

Esistono 4 specie di *Plasmodium* che hanno il genere umano come ospite intermedio e che causano la malaria (*falciparum*, *vivax*, *malariae*, *ovale*), raramente altri plasmodi, in particolare *Knowlesi*, possono essere trasmessi alla specie umana provenienti da primati che ne sono l'ospite intermedio.

I plasmodi *falciparum* e *vivax*, rappresentano la minaccia maggiore per la salute umana, il *P. falciparum* in particolare è il parassita della malaria più mortale e il più diffuso nel continente africano. Il *P. vivax* è il parassita della maggior parte dei casi di malaria nei Paesi al di fuori dell'Africa subsahariana. Se non trattata, la malaria da *P. falciparum* può progredire verso una malattia grave e la morte anche entro 24 ore.

I neonati, i bambini sotto i 5 anni, le donne incinte, le persone con HIV o AIDS e i viaggiatori nelle aree a rischio sono le categorie che corrono il rischio maggiore di contrarre infezioni gravi. I trattamenti con farmaci antimalarici nei malati possono impedire che i casi lievi peggiorino.

In questi ultimi anni sono purtroppo in rapido aumento sia le resistenze dei plasmodi ai farmaci sia quelle delle zanzare agli insetticidi.

La malaria può essere prevenuta evitando le punture di zanzara (repellenti, zanzariere e insetticidi per locali confinati, ecc.) e con i farmaci (chemioprofassi). Dall'ottobre 2021 l'OMS ha raccomandato l'uso, nell'infanzia, del vaccino RTS,S/AS01 per la prevenzione della malaria da *P. falciparum* nei Paesi a moderata/alta endemia. Tale vaccino ha una discreta efficacia. A inizio ottobre 2023 un secondo vaccino contro la malaria da *P. falciparum* è stato raccomandato dall'OMS, la sigla di questo nuovo vaccino è R21 e la sua efficacia sembra molto soddisfacente.

Il carico di malattia

Secondo l'ultimo rapporto OMS sulla malaria [1], nel 2021 si sono verificati nel mondo 247 milioni di casi di malaria e il numero stimato di decessi è stato pari a 619.000.

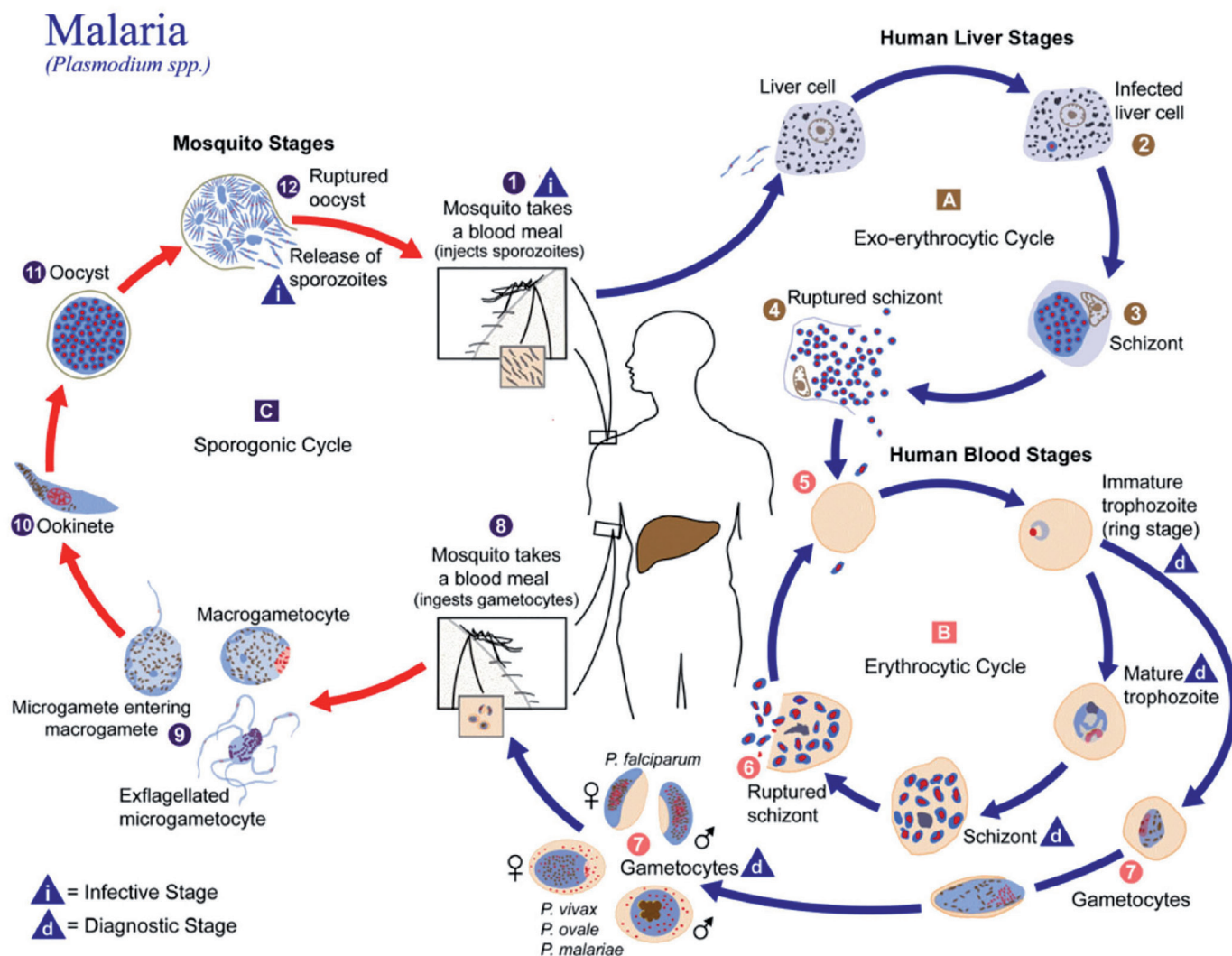


Figura 1. Ciclo vitale del Plasmodio (da CDC <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html#>).

Nel corso dei due anni di picco della pandemia da Covid-19 (2020-2021), le difficoltà e le riduzioni/sospensioni nella erogazione dei servizi sanitari legate al Covid hanno aggravato la situazione portando a oltre 13 milioni di casi di malaria in più e a 63.000 decessi in più. La regione africana dell'OMS continua a pagare il tributo più alto alla malaria con il 95% circa di tutti i casi e il 96% dei decessi. I bambini sotto i 5 anni rappresentano circa l'80% di tutte le morti per malaria dell'Africa. Più della metà di tutte le morti per malaria nel mondo sono concentrate in quattro Paesi africani: Nigeria (31,3%), Repubblica Democratica del Congo (12,6%), Repubblica Unita di Tanzania (4,1%) e Niger (3,9%).

Il difficile sviluppo dei vaccini antimalarici

Il vaccino contro la malaria, un problema complesso

La vaccinazione contro la malaria è un vecchio sogno per coloro che si interessano di malattie infettive, ma le difficoltà nello sviluppo di vaccini sono state e sono tuttora enormi. La malaria è causata da parassiti, e i parassiti sono molto più complessi in termini di biologia rispetto ai virus e ai batteri per i quali sono stati sviluppati svariati vaccini nel corso degli anni. Basti pensare che i parassiti della malaria hanno più fasi del loro ciclo vitale, cosa che virus e batteri non hanno, questi diversi stadi devono essere attaccati da diversi bracci del sistema immunitario, a seconda che i parassiti si trovino all'interno o all'esterno delle cellule ospiti e in molti casi durante le loro trasformazioni i parassiti sono antigenicamente distinti. Per meglio comprendere la complessità dei problemi che si devono affrontare nello sviluppo di vaccini antimalarici è opportuno riassumere brevemente il ciclo vitale del plasmodio malarico, non dimenticandoci che questi sono 4 e differiscono ampiamente l'uno dall'altro dal punto di vista antigenico per cui un vaccino efficace per il *P. falciparum* non è detto protegga dagli altri plasmodi e viceversa.

Il parassita ha un ciclo vitale complesso con molteplici fasi di sviluppo nell'uomo e nelle zanzare [Figura 1]. Tutto inizia quando una femmina di zanzara *Anopheles* infetta punge per nutrirsi un essere umano. La zanzara inocula nei tessuti o direttamente nel flusso sanguigno della persona punta il parassita malarico (sporozoita). Gli sporozoiti arrivano rapidamente fino al fegato ove penetrano nei sinusoidi epatici e invadono gli epatociti. In alcuni giorni lo sporozoite, nella cellula epatica, si sviluppa fino a formare circa 30.000 merozoiti per cellula. A questo punto l'epatocita muore liberando nel sangue migliaia di merozoiti, ciascuno dei quali può invadere un eritrocita. Si conclude la fase preeritrocitaria della infezione malarica e inizia quella eritrocitaria. Negli eritrociti, il merozoite può prendere due strade:

- **Sviluppo simile a quello epatico** con formazione di altre migliaia di merozoiti che una volta maturi romperanno il globulo rosso e si riverseranno nella corrente sanguigna per infettare altri globuli rossi. Nella infezione da *falciparum* ogni due giorni circa si ha un aumento di 10-20 volte del numero dei merozoiti, questa è la fase in cui sono presenti le manifestazioni cliniche della malattia.
- **Sviluppo in parassiti allo stadio sessuale** (gametociti) che liberi nel sangue potranno essere risucchiati nell'intestino di una zanzara anofele femmina al momento della puntura della persona infetta e così riaprire il ciclo infettivo attraverso la fase sessuata nella zanzara. Il macrogametocite femminile si unirà con il microgametocite maschile formando l'oochinete e quindi l'oociste che quando si romperà libererà gli sporozoiti nell'apparato salivare della zanzara che li potrà iniettare nell'ospite umano al momento della puntura. Inizierà così un nuovo ciclo di infezione.

Da quanto esposto si comprende come il ciclo di vita del Plasmodium è una progressione di stadi di differenziazione, ciascuno caratterizzato dall'espressione di proteine uniche per

quello stadio e alcune di queste possono divenire bersagli per il sistema immunitario dell'ospite. Tale complessità rende la progettazione di un vaccino ideale molto più impegnativa.

Verso la creazione dei vaccini antimalarici

I lavori innovativi di Ruth Nussenzweig a partire dagli anni Sessanta hanno aperto la strada alla vaccinazione contro la malaria grazie a tre importanti scoperte:

- a. gli sporozoiti malarici attenuati dall'irradiazione hanno potere immunizzante verso l'infezione (*Nature* 1967);
- b. gli anticorpi diretti contro un singolo antigene dello sporozoita, la proteina circumsporozoita (CSP), sono protettivi (*Science* 1980);
- c. l'importanza dei linfociti T CD8+ nell'immunità contro la malaria (*Nature* 1989).

Dall'inizio del XXI secolo, ogni anno si sono svolti circa dieci studi clinici su candidati vaccini contro la malaria con l'obiettivo di sfruttare la complessità degli stadi di differenziazione del plasmodio per trovare molteplici punti di attacco per i vaccini. Sinteticamente, a seconda dello stadio di sviluppo del parassita a cui sono indirizzati, i vaccini possono essere classificati in tre gruppi:

- a. **pre-eritrocitario** (sporozoiti e fegato), questa tipologia di vaccini mira a proteggere dall'infezione del parassita. Dal punto di vista immunologico l'obiettivo primario è quello di indurre anticorpi ad alto titolo ed alta affinità contro gli antigeni di superficie degli sporozoiti per impedire loro di raggiungere il fegato. I vaccini pre-eritrocitari pertanto avrebbero come obiettivo di prevenire l'infezione nel vaccinato;
- b. **eritrocitario asexuale** (merozoiti), questa tipologia di vaccini prende di mira le forme non sessuali del parassita che si moltiplicano ciclicamente nei globuli rossi e sono causa della malattia. Purtroppo esistono diversi ostacoli allo sviluppo di un vaccino efficace allo stadio eritrocitario. Uno dei problemi principali sta nel fatto che i merozoiti sono poco accessibili agli anticorpi poiché trascorrono brevissimo tempo in forma libera tra i globuli rossi. I vaccini contro i merozoiti avrebbero come obiettivo di ridurre la gravità della malattia impedendo la moltiplicazione dei merozoiti;
- c. **fase di trasmissione sessuale** (oochineti), questa ultima tipologia di vaccini punta sul blocco della trasmissione (TBV) ed è la più recente strategia vaccinale che, impedendo al parassita di riprodursi all'interno della zanzara mediante la generazione di anticorpi mirati alle forme sessuali del parassita o bloccando enzimi intestinali della zanzara necessari allo sviluppo degli oocineti, impedirebbe l'infezione delle zanzare e quindi la successiva trasmissione all'umano che viene punto dalla zanzara per cibarsi. Sebbene i vaccini che bloccano la trasmissione siano promettenti per combattere la malaria, esistono anche preoccupazioni etiche. I TBV infatti non riducono il rischio di contrarre l'infezione né riducono la gravità della malattia. Questi vaccini non possono proteggere direttamente le persone vaccinate, ma bloccano lo sviluppo del parassita nella zanzara e diminuiscono il numero di zanzare infette, agiscono pertanto con un meccanismo che assomiglia all'effetto gregge dei vaccini tradizionali. Per combattere la malaria sarà perciò necessario se si imbecca anche questa strada pensare ad un uso combinato con vaccini pre-eritrocitari (che prevenivano l'infezione) e vaccini TVB che diminuiscano la diffusione dei plasmodi e quindi il numero di zanzare infette.

Dalla sperimentazione clinica all'uso sul campo

Nell'ultimo decennio sono diminuiti gli studi clinici mirati allo stadio eritrocitario a favore di un aumento dei candidati vaccini mirati allo stadio pre-eritrocitario e questa focaliz-

zazione delle energie sulla fase pre-eritrocitaria dell'infezione malarica ha portato allo sviluppo e al recentissimo inserimento, da parte dell'OMS, dei due primi vaccini antimalarici contro il *P. falciparum*, RTS,S/AS01 e R21 nella offerta vaccinale per i bambini piccoli nelle aree a rischio dell'Africa subsahariana.

Il vaccino a subunità RTS,S/AS01 (nome commerciale Mosquirix GSK) ha come bersaglio la proteina circumsporozita (CSP) del *P. falciparum*, che costituisce parte integrante del rivestimento superficiale degli sporoziti ed è vitale nelle interazioni tra lo sporozita e gli epatociti. Il vaccino RTS,S include una forma troncata di CSP formata dalla regione C-terminale e dalla regione centrale ripetuta, che comprende una sequenza amminoacidica ripetuta di asparagina alanina-asparagina-prolina (NANP) con un epitopo del recettore delle cellule B ed epitopi immunodominanti delle cellule T CD4 e CD8 (T) fusi con gli antigeni di superficie dell'epatite B (HBsAg, l'antigene S). In aggiunta a ciò, nella formulazione del vaccino è resa disponibile una quantità tre volte maggiore di antigene HBsAg (S) "libero" per facilitare l'autoassemblaggio dell'immunogeno in particelle simili al virus (VLP) il tutto formulato con l'adiuvante AS01B [Figura 2].

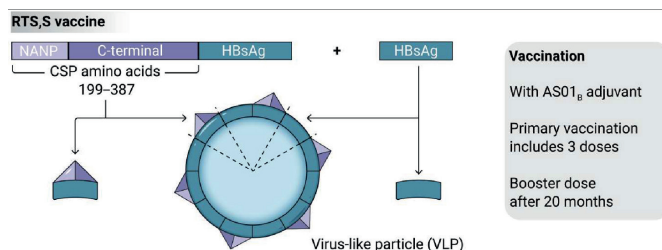


Figura 2. Da [3].

La vaccinazione primaria consiste in tre dosi di vaccino, a distanza di un mese l'una dall'altra, seguite da una dose di richiamo circa 18-20 mesi dopo. L'età attualmente raccomandata per iniziare la vaccinazione è a 5/6 mesi di vita. L'efficacia del vaccino purtroppo non è ottimale: un ampio studio di fase III, che ha incluso diverse aree endemiche dell'Africa, ha indicato che l'efficacia contro la malaria clinica, poche settimane dopo la terza dose, è al 74% nei bambini di età compresa tra 5 e 17 mesi e diminuisce al 28% dopo 1 anno ed è solo al 9% a 5 anni. Quando è stata somministrata una dose di richiamo, il vaccino RTS,S ha conferito un'efficacia vaccinale del 36% contro la malaria sintomatica e un'efficacia del 29% contro la malaria grave nell'arco di 4 anni [2]. L'efficacia del vaccino nei neonati di età compresa tra 6 e 12 settimane è stata considerata troppo bassa, pertanto, RTS,S è attualmente raccomandato solo per i bambini piccoli. Nessun vaccino contro la malaria è attualmente raccomandato per i bambini al di fuori di questa fascia di età o per gli adolescenti e gli adulti a rischio di malaria [3]. Nonostante questi evidenti limiti che contrastano con gli obiettivi contenuti nel documento OMS *Malaria vaccine technology Roadmap* [4] che fissava come traguardo per ritenere idoneo un vaccino antimalarico una efficacia protettiva nei confronti della malaria clinica almeno del 75%, l'OMS nell'ottobre 2021, ne ha raccomandato l'uso per la prevenzione della malaria da *P. falciparum* nei bambini che vivono in regioni con trasmissione da moderata ad alta (come definito dall'OMS) e nel luglio 2022, ha rilasciato l'approvazione di "prequalificazione" (il Prequalification Program è il sistema di accreditamento OMS per i prodotti medicinali idonei a essere utilizzati nell'ambito delle sue iniziative). Non sono mancate critiche nei confronti dell'OMS per aver accreditato il vaccino RTS,S/AS01, in particolare sul versante della sicurezza di questo vaccino. Una revisione pubblicata nel 2019 [6] basata sul grosso studio di fase III effettuato

nel 2015 [2] ha infatti messo in evidenza un eccesso di alcuni eventi avversi gravi nel braccio di studio sottoposto al vaccino rispetto ai controlli (meningiti, malaria cerebrale, mortalità femminile). Nonostante la cautela dei ricercatori nel presentare tali effetti, cautela dovuta al contesto in cui è stato svolto lo studio (Gabon, Burkina Faso e Ghana) e quindi al rischio di bias e fattori di confondimento, nelle conclusioni dello studio rimarcano: "Il maggior numero di casi di meningite e malaria cerebrale nel gruppo RTS,S/AS01 non sono considerati rischi confermati, ma piuttosto rischi potenziali data la bassa probabilità che questi eventi siano causati direttamente dal vaccino... questi 'segnali di sicurezza' possono essere risultati casuali ma, data la loro gravità, dovranno essere ulteriormente studiati. Lo squilibrio nella mortalità tra le bambine vaccinate con RTS,S/AS01 e quelle di controllo potrebbe essere correlato a effetti non specifici del vaccino attualmente sconosciuti, ma dovrebbe essere interpretato con cautela a causa del basso tasso di mortalità complessivo nello studio."

Considerando i "segnali di sicurezza" identificati, Il gruppo consultivo strategico di esperti sull'immunizzazione (SAGE) dell'OMS e il gruppo consultivo sulle politiche sulla malaria (MPAG) hanno raccomandato studi di implementazione pilota per valutare l'effetto del vaccino sulla malaria e sulla mortalità e la sua fattibilità e sicurezza nel contesto delle vaccinazioni di routine. Per questo nel 2019 è partito un programma pilota di implementazione del vaccino contro la malaria (MVIP) in Ghana, Kenya e Malawi con 494.745 bambini idonei a ricevere le tre dosi di vaccino RTS,S e confrontati con bambini della stessa età in aree in cui non si è vaccinato. Nell'ottobre 2021 l'OMS ha pubblicato [7] un report intermedio (2 anni di follow up) sulla sicurezza del vaccino sulla base del MVIP che così recita: "Nessuna prova è stata riscontrata per una relazione causale tra il vaccino RTS,S/AS01 e i 3 potenziali "segnali di sicurezza": malaria cerebrale, meningite o mortalità per sesso". L'approvazione per l'utilizzo di Mosquirix nelle campagne OMS deriva da questo report.

Recentemente nella sezione "Personal View" del *Lancet Infect. Dis.* [8] è stato pubblicato un ampio contributo critico in cui si sottolineano due rilevanti limiti del report OMS:

- a. aver "troncato" le valutazioni a metà del periodo preventivo (studio con follow up previsto di quattro anni), il che potrebbe alterare i risultati mostrando benefici del vaccino superiori al reale;
- b. aver deciso di utilizzare nel report come risultato proxy della mortalità per malaria i casi di malaria grave, che in altri studi si è mal correlata con la mortalità.

Per superare questi problemi ancora aperti speriamo che nel corso del 2024 l'OMS pubblichi i dati definitivi dello studio derivante dal MVIP.

Per migliorare l'efficacia protettiva del vaccino Mosquirix sono state portate avanti numerose sperimentazioni, le più promettenti sono:

- l'inoculazione del vaccino appena prima del picco della stagione della malaria in aree con trasmissione della malaria altamente stagionale. Tale approccio ha portato a un'efficacia protettiva di circa il 75%;
- l'inoculazione ritardata della terza dose (6 mesi dopo la seconda) e con dose ridotta di vaccino (1/5 della dose standard). Tale approccio in adulti "naive" per la malaria ha messo in evidenza una efficacia protettiva del 86%. Un richiamo, sempre a dose ridotta ha confermato la stessa efficacia protettiva del ciclo primario (0-1-7) [5]. Questa strategia vaccinale è attualmente in fase di test su bambini in Ghana e Kenya;
- l'uso combinato del vaccino e della chemiopprofilassi stagionale. Tale strategia nei bambini di zone con malaria stagionale ha messo in evidenza una efficacia protettiva, a medio termine, doppia rispetto al solo vaccino.

Il secondo vaccino recentemente raccomandato dall'OMS [9] con la sigla R21/Matrix/M è simile al RTS,S/AS01 ma non è presente l'eccesso di HBsAg "libero" caratteristico di RTS,S/AS01. Ciò permette una maggior presenza sulla superficie delle particelle virus-simile (VLP) degli epitopi della proteina circumsporozita che probabilmente rappresentano un miglior stimolo immunitario che ha prodotto un significativo aumento della efficacia del vaccino R21 rispetto a RTS,S. Un'ulteriore differenza sta nel composto "adiuvante", che nel vaccino R21 è costituito da Matrix-M (MM) prodotto da Novavax, a base di saponina che stimola la risposta immunitaria sia umorale che cellulare.

L'efficacia nel prevenire la malaria in studi clinici [10] del R21/Matrix/M nella formulazione con 50 µg di adiuvante è risultata, dopo il ciclo primario (3 dosi a un mese di distanza l'una dall'altra), del 80% (IC 95% 72-85) e dopo il richiamo (dopo 12 mesi dal ciclo di base) addirittura del 78% (IC95% 71-83) per i 12 mesi di follow up. In base a questo studio l'OMS ha raccomandato il vaccino R21/Matrix/M, se questi ottimi risultati saranno confermati da studi sul campo in corso attualmente, studi che stanno valutando anche la sicurezza, il vaccino R21/Matrix/M potrà rappresentare una arma molto efficace nella lotta alla malaria da Falciparum e migliorare la salute dei bambini e delle bambine delle zone a moderata/alta diffusione della malaria.

Se non emergeranno problemi impreveduti nella seconda metà del 2024 probabilmente il vaccino R21/Matrix/M riceverà dall'OMS la "prequalificazione" e potrà essere utilizzato nell'ambito delle sue campagne vaccinali nei Paesi con malaria da P. falciparum. ■

Bibliografia

1. OMS. World malaria report 2022. <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022>.
2. RTS,S Clinical Trial Partnerships. Efficacy and safety of RTS,S/AS01 malaria vaccine with or without a booster dose in infants and children in Africa: final results of a phase 3, individually randomised, controlled trial. *Lancet*. 2015 Jul 4;386(9988):31-45.
3. Beeson JG, Kurtovic L, Valim C, et al. The RTS,S malaria vaccine: Current impact and foundation for the future. *Sci Transl Med*. 2022 Nov 16;14(671):eabo6646.
4. OMS. Malaria vaccine technology Roadmap 2013. <https://www.who.int/publications/m/item/malaria-vaccine-technology-roadmap>.
5. Regules JA, Cicatelli SB, Bennett JW, et al. Fractional Third and Fourth Dose of RTS,S/AS01 Malaria Candidate Vaccine: A Phase 2a Controlled Human Malaria Parasite Infection and Immunogenicity Study. *J Infect Dis*. 2016 Sep 1;214(5):762-71.
6. Guerra Mendoza Y, Garric E, Leach A, et al. Safety profile of the RTS,S/AS01 malaria vaccine in infants and children: additional data from a phase III randomized controlled trial in sub-Saharan Africa. *Hum Vaccin Immunother*. 2019;15(10):2386-2398.
7. WHO. Full evidence report on the RTS,S/AS01 malaria vaccine. October, 2021. [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/mvip/full-evidence-report-on-the-rtss-as01-malaria-vaccine-for-sage-mpag-\(sept2021\).pdf](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/mvip/full-evidence-report-on-the-rtss-as01-malaria-vaccine-for-sage-mpag-(sept2021).pdf).
8. Björkman A, Stabell Benn C, Aaby P, Schapira A. RTS,S/AS01 malaria vaccine – proven safe and effective? *Lancet Infect Dis*. 2023 Aug;23(8):e318-e322.
9. WHO recommends R21/Matrix-M vaccine for malaria prevention in updated advice on immunization. <https://www.who.int/news/item/02-10-2023-who-recommends-r21-matrix-m-vaccine-for-malaria-prevention-in-updated-advice-on-immunization>.
10. Dattoo MS, Natama HM, Somé A, et al. Efficacy and immunogenicity of R21/Matrix-M vaccine against clinical malaria after 2 years' follow-up in children in Burkina Faso: a phase 1/2b randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis*. 2022 Dec;22(12):1728-1736.

farnetimax@gmail.com