

PERBANDINGAN RASIO TNF- α DAN IL-10 PADA PENDERITA MALARIA DI DAERAH ENDEMIS DI KALIMANTAN SELATAN

Istiana^a, Nelly Al Audhah^a, Yulia Syarifa^b, Muhammad Dawud Ashari^c, Rifqi Madani^d

^aDepartemen Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran ULM, ^bDepartemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran ULM, ^cProgram Studi Pendidikan Dokter Program Profesi Fakultas Kedokteran ULM, ^dProgram Studi Pendidikan Dokter Program Sarjana Fakultas Kedokteran ULM

Email korespondensi : dr.istiana@ulm.ac.id

ABSTRAK

Sitokin inflamasi dan regulator terlibat dalam patogenesis infeksi malaria. Hubungan antara sitokin ini dengan manifestasi klinis penyakit sangat sedikit dipelajari terutama di daerah endemis rendah seperti Kalimantan Selatan. Penelitian sebelumnya di daerah endemis tinggi menunjukkan bahwa kadar sitokin akan berbeda antara penderita malaria tanpa gejala, dengan gejala dan gejala berat. Kadar sitokin juga dapat berbeda antar daerah karena perbedaan jenis Plasmodium yang menginfeksi, tipe infeksi, dan genetik. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis perbandingan rasio TNF- α dan IL-10 pada penderita malaria dan kontrol sehat terpapar. Merupakan penelitian case control yang melibatkan penduduk di daerah endemis di Kalimantan Selatan. Variabel bebas adalah kadar TNF- α dan IL-10, dan variabel terikat yaitu kejadian malaria yang dideteksi menggunakan Rapid test diagnostic dan mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar TNF- α yang tinggi ditemukan pada sebagian besar penderita malaria, sedangkan kadar IL-10 tinggi ditemukan pada control yang pernah terpapar dengan malaria. Kesimpulan penelitian ini adalah terdapat perbedaan rasio TNF- α /IL-10 antara penderita malaria dengan control di daerah endemis di Kalimantan Selatan.

Kata kunci: rasio - TNF- α /IL-10 – malaria

PENDAHULUAN

Angka kesakitan dan kematian akibat infeksi malaria masih cukup tinggi. *World health organization* (WHO) memperkirakan ada 245 juta kasus malaria pada tahun 2020 dengan angka kematian 627.000 orang dan sebagian besar terjadi di Afrika dan Asia (WHO, 2021). Kasus ini meningkat menjadi 247 juta kasus pada tahun 2021 (WHO, 2022). Indonesia menjadi negara kedua terbanyak penyumbang kasus malaria setelah India di kawasan Asia Tenggara, yaitu sebanyak 21%. Pada tahun 2020 didapatkan 226.634 kasus dan meningkat pada tahun 2021 menjadi 304.607 kasus serta tahun 2022 menjadi 415.140 kasus. Risiko terbesar terutama bagi individu yang rentan seperti anak-anak, ibu hamil dan pelaku perjalanan yang datang dari daerah non endemis ke daerah endemis malaria (Kemenkes, 2023).

Imunitas terhadap malaria dibentuk ketika terjadi paparan oleh parasit terutama di daerah endemis. Frekuensi paparan menunjukkan tingkat endemisitas malaria dan mempengaruhi berat ringannya gejala penyakit, karena paparan yang sering akan menimbulkan antibodi yang bersifat protektif (Belachew *et al*, 2018; Istiana, *et al.*, 2021). Selain antibodi, imunitas yang juga menentukan munculnya gejala klinis adalah keseimbangan antara sitokin inflamasi dan regulator. Keseimbangan ini ditandai salah satunya dengan rasio TNF- α dan IL-10 (Oyegue-Liabagui, *et al.*, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rasio TNF- α /IL-10 pada penderita malaria yang tinggal di daerah endemis dibandingkan dengan penduduk yang tidak terkena malaria (kontrol). Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk menemukan alternatif obat dan pengembangan vaksin malaria melalui pemahaman proses imunologi yang terjadi sesuai dengan kondisi geografis di Kalimantan Selatan.

METODE

Rancangan penelitian ini adalah case control dengan menggunakan kasus dan 2 (dua) kontrol sebagai pembanding. Daerah penelitian adalah daerah endemis malaria dengan API tahun 2017 sebesar 34,8% (endemis tinggi). Kelompok kasus dan kelompok kontrol terpapar diambil di daerah endemis, sedangkan kelompok kontrol tidak terpapar diambil di daerah non endemis dengan tujuan agar hasil sitokin yang didapatkan lebih valid.

Diagnosis malaria dilakukan dengan *Rapid Diagnostic Test* SD Bioline Malaria Pf/Pan dan dikonfirmasi menggunakan pemeriksaan mikroskopis oleh tenaga expert. Pemeriksaan sitokin terhadap plasma darah responden dilakukan menggunakan ELISA reader dengan reagen Thermoscientific TNF- α human dan IL-10 human produksi Thermoscientific di Laboratorium Biokimia FK ULM Banjarbaru. Analisis data untuk mengetahui rasio TNF- α /IL-10 dihitung menggunakan aplikasi *SPSS for Macintosh* versi 28. Perbedaan kadar sitokin dan rasio antar kelompok dianalisis menggunakan Uji Kruskal wallis dan dilanjutkan dengan Uji Mann whitney.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Distribusi Responden Penelitian

Jumlah responden yang terlibat dalam penelitian ini sebanyak 30 orang untuk masing-masing kelompok. Kelompok kasus ditentukan berdasarkan pemeriksaan RDT dan dilakukan konfirmasi ulang menggunakan pemeriksaan hapusan darah tebal. Kelompok kontrol negatif terpapar dan tidak terpapar diambil berdasarkan hasil pemeriksaan RDT dan mikroskopis yang negatif. Adapun distribusi frekuensi sosiademografi responden penelitian dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1 Distribusi frekuensi responden penelitian berdasarkan usia, jenis kelamin, pekerjaan dan riwayat terkena malaria sebelumnya.

Variabel	Kasus (N=30)	Negatif Terpapar (N=30)	Negatif Tidak Terpapar (N=30)
Usia (Tahun)			
15-45	24 (80%)	26 (86,7%)	26 (86,7%)
Lebih 45	6 (20%)	4 (13,3%)	4 (13,3%)
Jenis Kelamin			
Pria	15 (50%)	15 (50%)	15 (50%)
Wanita	15 (50%)	15 (50%)	15 (50%)
Pekerjaan			
Di hutan	20 (66,7%)	24 (80%)	0 (0%)
Tidak	10 (33,3%)	6 (20%)	30 (100%)
Riwayat Malaria			
Ya	16 (53,3%)	14 (46,7%)	0 (0%)
Tidak	14 (46,7%)	16 (53,3%)	30 (100%)

Pada Tabel 1 terlihat bahwa sebagian besar responden berusia 15-45 tahun untuk semua kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar responden berada pada usia produktif, yaitu usia yang masih aktif bekerja. Daerah penelitian merupakan daerah hutan yang masih lebat dan di dalamnya banyak desa-desa kecil yang terbentuk akibat adanya kegiatan ekonomi seperti penambang emas dan penebang kayu. Banyak pendatang dari luar yang bekerja di daerah penelitian ini karena potensinya untuk mendapatkan emas atau kayu. Sehingga sebagian besar penduduknya pun adalah pekerja hutan. Hal ini didukung oleh variabel pekerjaan, dimana sebagian besar responden yang berada pada kelompok kasus adalah bekerja di hutan, sama dengan kelompok negatif terpapar. Berbeda dengan kelompok negatif tidak terpapar, yang diambil dari daerah non endemis, seluruh responden tidak ada yang bekerja di hutan.

Bekerja di hutan merupakan salah satu faktor risiko terjadinya malaria hutan. Hal ini disebabkan karena hutan menyediakan lingkungan yang paling sesuai untuk perkembangan vektor nyamuk *Anopheles spp.* Selain itu kegiatan penambangan emas menyebabkan perubahan fisika dan kimia sungai yang ada di dalam hutan, yang mendukung perkembangan nyamuk vektor. Selain faktor lingkungan, faktor kebiasaan atau perilaku juga berperan pada infeksi malaria ini, terutama kebiasaan yang memudahkan nyamuk untuk menggigit manusia seperti keluar rumah malam hari, tidur tidak menggunakan kelambu dan lain sebagainya (Istiana, *et al.*, 2021).

Faktor utama yang membedakan hutan dari ekosistem lain dalam kaitannya dengan dinamika penularan malaria adalah pengaruh hutan terhadap penyangga suhu, curah hujan, kelembaban, kanopi pohon, flora, fauna, kandungan organik yang tinggi dan kurangnya infrastruktur. Pengembangan infrastruktur di hutan sangat sulit karena bentuk lahannya yang tidak rata, dan vegetasi yang lebat.

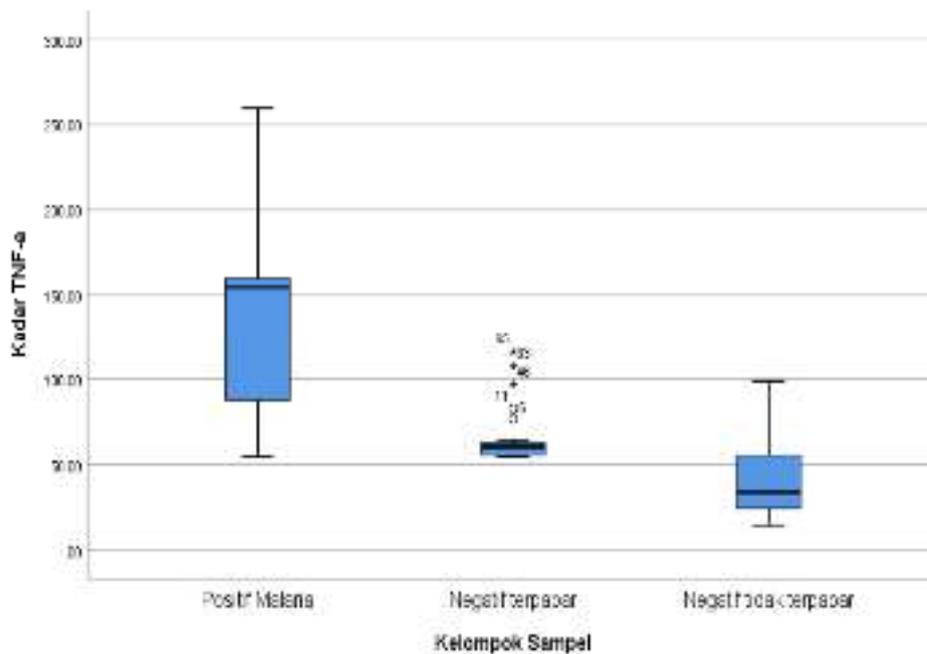
Komunikasi yang sulit juga menghambat kegiatan pengendalian malaria di daerah tersebut (Ranjha *et al.*, 2021).

Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian Ranjha *et al* (2021) di India Selatan yang mendapatkan prevalensi malaria hutan sebesar 32% dan 43% kematian terjadi di daerah ini. Penelitian Thanh *et al* (2015) di Central Vietnam dan Kunkel *et al* (2021) di Kamboja juga menunjukkan prevalensi malaria yang tinggi di daerah hutan. Persamaan ini disebabkan karena daerah malaria hutan di India Selatan, Vietnam dan Kamboja memiliki karakteristik iklim yang hampir mirip yaitu beriklim tropis. Kesamaan jenis pekerjaan sebagai penebang pohon atau penambang emas juga menjadi salah satu faktor penyebab (Thanh *et al.*, 2015).

Sebagian besar responden yang tinggal di daerah endemis (untuk kelompok kasus dan kelompok negatif terpapar) pernah mengalami infeksi malaria sebelumnya. Hal ini disebabkan di daerah endemis, paparan atau gigitan nyamuk akan terjadi lebih intens. Paparan ini awalnya dapat menyebabkan gejala atau bisa tanpa gejala, tetapi hasil pemeriksaan positif berdasarkan RDT ataupun mikroskopis. Adanya riwayat infeksi malaria sebelumnya akan mempengaruhi imunitas tubuh responden dan mempengaruhi kejadian malaria, apakah akan menjadi infeksi akut atau tidak, apakah ada gejala atau tidak, dan apakah ada komplikasi atau tidak. Sebagian besar responden yang pernah mengalami infeksi malaria akan mengembangkan kekebalan atau imunitas terhadap malaria, sehingga tidak akan menimbulkan infeksi akut ataupun jarang menyebabkan komplikasi yang parah. Hal ini disebabkan karena adanya antibodi yang terbentuk pada penduduk yang telah sering mendapatkan paparan vektor infeksi seperti antibodi terhadap *Merozoite surface protein-1* (MSP-1), yang memiliki sifat protektif terhadap infeksi akut malaria (Istiana, 2022).

2. Perbandingan Kadar TNF- α dan IL-10

Perbandingan kadar TNF- α dan IL-10 antara kelompok penderita malaria dengan kelompok negatif terpapar dan kelompok negatif tidak terpapar disajikan dalam Gambar 1, Gambar 2 dan Tabel 2 berikut.



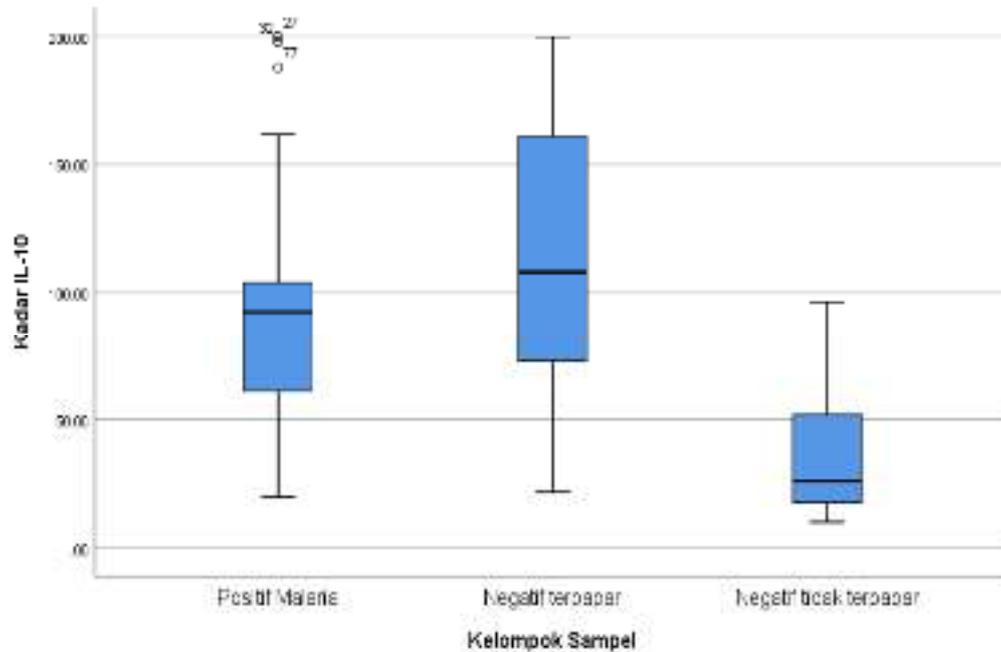
Gambar 1 Perbandingan kadar TNF- α pada masing-masing kelompok

Kadar sitokin TNF- α meningkat secara bermakna pada kelompok positif malaria dibandingkan kelompok negatif malaria. TNF- α diketahui memainkan peran penting dalam peradangan, apoptosis, dan kekebalan lainnya. Kadar yang bersirkulasi dapat berfungsi untuk mengendalikan infeksi atau menyebabkan gejala yang berat, tergantung pada jumlah yang diproduksi. TNF- α pada awal infeksi diproduksi untuk mengendalikan parasitemia melalui eliminasi patogen (Nguyen *et al.*, 2017). Hal ini dicapai melalui mekanisme pirogenik dan kaskade sitokin proinflamasi. Namun, karena bergantung pada kadar, maka peran TNF- α maupun IFN- γ tidak hanya melindungi terhadap penyakit tetapi berpengaruh terhadap patogenesis penyakit (Mohanty *et al.*, 2019).

TNF- α menginduksi *reactive oxygen species* (ROS), kematian sel dan sekresi sitokin lain seperti IL-1 dan IL-6. Selain itu, TNF- α juga mengatur produksi IL-12 oleh makrofag dan neutrofil serta berfungsi sebagai kofaktor untuk produksi IFN- γ yang diinduksi IL-12 (Mohanty *et al.*, 2019). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa peningkatan kadar TNF- α dan IL-6 pada malaria berhubungan dengan sitoadherensi eritrosit terinfeksi yang mengarah pada perkembangan penyakit demam. Penelitian juga menunjukkan bahwa kadar TNF- α yang moderat berhubungan dengan pengendalian parasit dengan merangsang monosit untuk memfagosit eritrosit terinfeksi serta mengaktifkan pensinyalan kalsium pada parasit intraeritrositik sehingga mengubah siklus hidup dan menyebabkan gangguan perkembangbiakan (Oyegue-Liabagui *et al.*, 2017).

Sitokin anti inflamasi diproduksi untuk menghindari dampak tingginya kadar sitokin pro inflamasi. Sitokin anti inflamasi seperti IL-4, IL5, IL-10, dan IL-13 disekresi untuk mengatur inflamasi (Oyegue-

Liabagui *et al.*, 2017), begitu juga sitokin imunoregulator TGF- β yang terbukti mengatur kadar pro dan anti inflamasi untuk keseimbangan homeostatik (Kumar *et al.*, 2019). Gambar 2 berikut adalah hasil perbandingan kadar IL-10 pada penelitian ini.



Gambar 2 Perbandingan kadar IL-10 pada masing-masing kelompok

Pada gambar di atas tampak rerata kadar IL-10 ditemukan lebih tinggi pada kelompok negatif terpapar, dibandingkan pada kelompok positif malaria dan kelompok negatif tidak terpapar. Tingginya kadar IL-10 pada kelompok negatif yang terpapar (penduduk di daerah endemis) menunjukkan adanya mekanisme imun yang protektif terhadap malaria. Jika dibandingkan dengan kelompok positif, maka kadar IL-10 pada kelompok ini lebih rendah dibandingkan kelompok negatif terpapar. Hal ini dapat disebabkan pada infeksi malaria, produksi sitokin anti inflamasi (IL-10) akan dimulai ketika terjadi peningkatan kadar sitokin pro inflamasi seperti TNF- α yang berlebihan. Hal ini terlihat pada Gambar 1 sebelumnya yang menunjukkan bahwa kadar TNF- α lebih tinggi pada kelompok positif, dan kadar IL-10 mulai disekresi untuk menyeimbangkan kadar pro inflamasi ini. Berbeda dengan kelompok negatif tidak terpapar, yang menunjukkan produksi kedua sitokin sama-sama rendah, yang menunjukkan tidak ada proses inflamasi yang terjadi.

IL-10 merupakan molekul pengatur penting pada malaria yang melindungi jaringan dengan mencegah inflamasi yang berlebihan. IL-10 bekerja secara langsung dengan meredam sitokin proinflamasi dan/atau produksi kemokin, juga dengan menurunkan ekspresi MHC-II dan molekul kostimulatori pada sel APC. IL-10 disekresikan oleh banyak sel seperti sel B, sel Th1, Th2, Th17, dan Treg, serta sel imun bawaan seperti makrofag dan sel dendrit. IL-10 berfungsi menekan respons pro-

inflamasi pada infeksi *P. falciparum*, dan malaria falciparum berat berhubungan dengan respon umpan balik negatif yang tidak memadai oleh IL-10. Kurangnya umpan balik negatif terlihat dari rasio IL-10 dan TNF alfa (Kumar *et al.*, 2019).

Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian di Ghana yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna kadar IL-10 antara penderita malaria tanpa gejala, submikroskopis dan kontrol yang sehat. Begitu juga penelitian di Trenggalek yang menunjukkan peningkatan IL-10 seiring peningkatan TNF- α pada penderita asimtomatik malaria (Nurdianto dkk, 2019). IL-10 tampaknya memainkan peran penting dalam mengatur efek patogen TNF- α selama infeksi malaria, sehingga jika terjadi peningkatan TNF- α maka IL-10 akan meningkat. Dalam melakukan peran penting ini, IL-10 dapat meningkatkan kepadatan parasit yang akhirnya mengakibatkan komplikasi termasuk akumulasi eritrosit terinfeksi dalam jaringan yang dapat menyebabkan hipoksia dan kerusakan langsung pada pembuluh darah (Kumar *et al.*, 2019; Tembo *et al.*, 2023).

Tabel 2 berikut menunjukkan analisis statistik perbandingan rerata kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan rasio TNF- α /IL-10.

Tabel 2 Perbandingan kadar TNF- α , IL-10 dan rasio TNF- α /IL-10 pada masing-masing kelompok penelitian

Variabel	Kasus (N=30)	Negatif Terpapar (N=30)	Negatif Tidak Terpapar (N=30)	P.value
Kadar TNF- α				0,000
Mean	140,21	64,60	38,96	
Min	54,50	54,50	14,50	
Max	259,65	115,76	98,76	
SD	61,49	15,70	22,10	
Kadar IL-10				0,000
Mean	91,41	116,89	36,15	
Min	19,8	21,71	10,00	
Max	199,90	199,80	96,44	
SD	46,45	52,74	24,32	
Rasio TNF- α /IL-10	2.118	0,732	1,357	0,000

Tabel 2 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar TNF- α , IL-10 dan rasio TNF- α /IL-10 antara kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa pada infeksi malaria akan ditemukan peningkatan kadar TNF- α dan diikuti oleh IL-10 dengan rasio 2,118. Pada kelompok negatif terpapar didapatkan kadar TNF- α yang lebih rendah, tetapi kadar IL-10 yang tinggi dengan rasio 0,732. Hal ini menunjukkan bahwa responden pada kelompok ini sebelumnya pernah terpapar, tetapi sudah sembuh yang ditunjukkan dengan tingginya kadar anti inflamasi. Pada kelompok kontrol tidak terpapar, rasio

yang didapat adalah 1,3 dengan rerata kadar yang jauh lebih rendah dibandingkan kedua kelompok. Hal ini menunjukkan keseimbangan kadar sitokin pro dan anti inflamasi.

Keseimbangan sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi sangat penting dalam infeksi malaria karena infeksi malaria adalah kondisi yang melibatkan peradangan sistemik yang signifikan. Sitokin adalah molekul yang berperan penting dalam mengatur respon imun tubuh terhadap infeksi. Ketidakseimbangan dalam produksi sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi dalam infeksi malaria dapat memiliki konsekuensi serius (Oyegue-Liabagui *et al.*, 2017). Keseimbangan ini sangat penting dalam kasus malaria karena berperan dalam perlindungan terhadap parasit dengan mensekresi sitokin pro-inflamasi seperti IFN- γ dan TNF- α , yang akan membantu tubuh dalam mengatasi infeksi malaria dengan merangsang respons imun untuk menghancurkan parasit. Namun, jika respon pro-inflamasi menjadi terlalu kuat, itu dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan gejala yang parah (Tembo *et al.*, 2023). Sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 berperan dalam mengendalikan peradangan dan mencegah kerusakan jaringan yang berlebihan. Ketidakseimbangan sitokin dapat mempengaruhi tingkat keparahan gejala malaria. Inflamasi berlebihan dapat menyebabkan demam tinggi, kejang, kerusakan organ, dan bahkan kematian. Keseimbangan yang baik antara sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi membantu dalam mengontrol gejala dan mengurangi risiko komplikasi serius (Fugtagbi, *et al.*, 2022).

Keseimbangan sitokin juga penting untuk memicu respon imun adaptif yang efektif dalam melawan parasit malaria. Respon imun adaptif melibatkan produksi antibodi dan sel T yang memainkan peran penting dalam melawan infeksi. Sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi berkontribusi pada regulasi respon ini. Dalam kasus infeksi malaria, peran sitokin sangat kompleks, dan keseimbangan yang tepat antara sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi merupakan faktor kunci dalam menentukan hasil infeksi. Oleh karena itu, pemahaman yang lebih baik tentang regulasi sitokin dalam infeksi malaria dapat membantu dalam pengembangan terapi yang lebih efektif (Fugtagbi, *et al.*, 2022).

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Universitas Lambung Mangkurat atas dana hibah penelitian ini. Terimakasih juga diucapkan untuk semua pihak yang telah banyak membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Belachew, E. B., 2018. Review Article: Immune Response and Evasion Mechanisms of Plasmodium falciparum Parasites. *Journal of Immunology Research*, Volume 2018, pp. 1-6.

- Frimpong A, Amponsah J, Adjokatsheh AS, Agyemang D, Bentum-Ennin L, Ofori EA, et al. 2020. Asymptomatic Malaria Infection Is Maintained by a Balanced Pro- and Anti-inflammatory Response. *Front Microbiol.* doi: 10.3389/fmicb.2020.559255.
- Fugtagbi G, Otu PS, Abdul-Rahman M, Aidoo EK, Lo AC, Gyan BA, et al. 2022. Association of TNF-Alpha, MBL2, NOS2, and G6PD with Malaria Outcomes in People in Southern Ghana. *Genet Res (Camb).* doi: 10.1155/2022/6686406.
- Istiana I, Hadi U, Dachlan YP, Arwati H. Malaria at Forest Areas in South Kalimantan, Indonesia: Risk Factors and Strategies for Elimination. *Open Access Maced J Med Sci [Internet].* Available from: <https://oamjms.eu/index.php/mjms/article/view/7012>
- Istiana I. 2022. *Efektivitas antibodi spesifik merozoite surface protein -I Plasmodium sp pada respon imun terhadap malaria.* Editor: Muddin FI, CV Mine. Yogyakarta. DOI: 10.6084/m9.figshare.20538873. Available <https://www.researchgate.net/publication/362850955>
- Kemendes, 2023. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2022*, Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kunkel A, Nguon C, Iv S, Chhim S, Peov D, Kong P, et al, 2021. Choosing interventions to eliminate forest malaria: preliminary results of two operational research studies inside Cambodian forests. *Malar J.* vol. 20, no.1, pp.51. doi: 10.1186/s12936-020-03572-3.
- Kumar, R., Ng, S. & Engwerda, C., 2019. The Role of IL-10 in Malaria : A Double Edged Sword. *Frontiers in Immunology*, 10(229), pp. 1-10.
- Mohanty S, Singh US, Mohanty S, Mohanty AK, Pande V, Das A. Evolutionary interplay of single nucleotide polymorphisms at the promoter region of TNF- α gene in different clinical outcomes of malaria in India. *Infect Genet Evol.* 2019 doi: 10.1016/j.meegid.2019.01.025.
- Nurdianto AR, Arwati H, Dachlan YP, Febiyanti DA. 2019. The Relationship of Hemoglobin, Interleukin-10 and Tumor Necrosis Factor Alpha Levels In Asymptomatic Malaria Patients in Trenggalek, Jawa Timur, Indonesia. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences* 3(1):13. DOI: [10.21705/mcbs.v3i1.37](https://doi.org/10.21705/mcbs.v3i1.37)
- Nguyen TN, Baaklini S, Koukouikila-Koussounda F, Ndounga M, Torres M, Pradel L, et al. Association of a functional TNF variant with Plasmodium falciparum parasitaemia in a congolese population. *Genes Immun.* 2017 Sep;18(3):152-157. doi: 10.1038/gene.2017.13.
- Oyegue-Liabagui SL, Bouopda-Tuedom AG, Kouona LC, Maghendji-Nzondo S, Nzoughe H, Tchitoula-Makaya N, et al. 2017. Pro- and anti-inflammatory cytokines in children with malaria in Franceville, Gabon. *Am J Clin Exp Immunol* 6(2):9-20.
- Ranjha R & Sharma A, 2021. Forest malaria: the prevailing obstacle for malaria control and elimination in India. *BMJ Glob Health*, vol. 6, no. 5. doi: 10.1136/bmjgh-2021-005391.
- Tembo D, Harawa V, Tran TC, Afran L, Molyneux ME, et al. 2023. The ability of Interleukin-10 to negate haemozoin-related pro-inflammatory effects has the potential to restore impaired macrophage function associated with malaria infection. *Malar J.* 2023 doi: 10.1186/s12936-023-04539-w.

Thanh PV, Van Hong N, Van Van N, Van Malderen C, Obsomer V, Rosanas-Urgell A, *et al*, 2015. Epidemiology of forest malaria in Central Vietnam: the hidden parasite reservoir. *Malar J*, vol.14, no.86. doi: 10.1186/s12936-015-0601-y.

WHO, 2022. *World Malaria Report 2021*, Geneva: WHO.