EVOLUZIONE NELLA DIAGNOSI DI MALARIA

M. Menegon [1]
[1]*Reparto malattie trasmesse da vettori, Dipartimento malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Evoluzione nella diagnosi di malaria
Michela Menegon
Reparto di malattie trasmesse da vettori - Dipartimento di Malattie Infettive-
Istituto Superiore di Sanità, Roma

La malaria costituisce una delle principali cause di morbosità e mortalità nelle aree tropicali e subtropicali. In Europa questa parassitosi non è attualmente presente in forma endemica, tuttavia la malaria rappresenta la più rilevante malattia d'importazione, determinata sia dal crescente numero di viaggiatori internazionali sia dall'aumento dei flussi migratori provenienti da aree endemiche.

Gli strumenti disponibili per la diagnosi della malaria comprendono la microscopia, i test immunocromatografici (comunemente noti come test diagnostici rapidi-RDTs) e i saggi molecolari, ognuno con specifici vantaggi e limitazioni relativamente al loro impiego nella diagnosi clinica della malaria.

A tutt'oggi, il metodo di riferimento per la diagnosi della malaria è costituito dall'esame di preparati emoscopici (vetrini con goccia spessa e/o striscio sottile). La diagnosi microscopica consente l'identificazione delle principali specie che causano la malaria (P. falciparum, P. vivax, P. malariae e P. ovale), la determinazione della densità parassitaria e dei vari stadi di sviluppo del parassita.

Gli RDTs, da lungo tempo utilizzati come supporto alla microscopia, sono tests relativamente semplici da eseguire ed interpretare e forniscono risultati in tempi rapidi. Questi tests identificano tre principali gruppi di antigeni (PfHRP2, pLDH e Aldolase) prodotti dai parassiti malarici.

Tuttavia, gli RDTs presentano problematiche legate alla specificità e sensibilità. Inoltre, di recente, è stata identificata una delezione nel gene codificante l'antigene PfHRP-2 in popolazioni di Plasmodium falciparum di alcune aree endemiche che ha determinato una notevole percentuale di falsi negativi.

L'introduzione a fini diagnostici delle metodiche molecolari, quali nested-PCR e Real Time PCR, ha permesso di risolvere i problemi di sensibilità e specificità legati ai convenzionali metodi diagnostici. Tuttavia, tali saggi molecolari richiedono attrezzature costose e personale specializzato, requisiti che di fatto limitano il loro impiego ai soli laboratori centrali.

La recente possibilità di amplificare il DNA a temperature isotermiche ha fornito l'opportunità di produrre test molecolari di facile esecuzione. Gli approcci isotermici (non-PCR), che coinvolgono l'uso di proteine accessorie e che simulano l'amplificazione dell'acido nucleico in vitro, possono facilitare l'amplificazione del DNA target mediante l'incubazione a temperatura costante (40°C-60°C), producendo risultati in tempi brevi (30-60 minuti) e permettendo di rilevare infezioni di circa 1 parassita/μL di sangue. Un ulteriore vantaggio di queste metodiche è la semplicità della determinazione degli endpoint, spesso mediante osservazione visiva.

I saggi molecolari (PCR-based assays) trovano numerose altre applicazioni fornendo strumenti utili per il genotyping degli isolati plasmodiali e per il monitoraggio della diffusione della farmaco-resistenza.