ATTUALITà DIAGNOSTICHE IN PARASSITOLOGIA

V. Mangano [1]
[1]*Università di Pisa*

La diagnosi di laboratorio delle infezioni parassitarie si avvale tutt'oggi in larga misura della microscopia, che permette l'identificazione di tutti i parassiti potenzialmente presenti in un campione biologico, e che in molti casi consente la determinazione sia della specie che dello stadio del parassita, oltre che una stima dell'intensità dell'infezione. Un limite significativo della diagnosi microscopica è però la sensibilità, in particolare a basse intensità dell'infezione.
I metodi molecolari, basati sulla ricerca di materiale genetico del parassita, offrono la possibilità di aumentare notevolmente la sensibilità diagnostica, e di identificare specie gemelle, o più in generale taxa dalla diversa patogenicità ma microscopicamente identici. La sensibilità di questi metodi si presta, oltre che alla diagnosi di laboratorio dei casi clinici, anche allo screening di soggetti asintomatici, di fondamentale importanza per prevenire la trasmissione dell'infezione, in particolare da parte dei donatori di sangue o d'organo, e l'evoluzione della malattia. Le tecniche quantitative permettono inoltre il follow-up post-trattamento dei pazienti. La recente introduzione della tecnica LAMP (Loop mediated isothermal AMPlification) rappresenta un importante avanzamento in quanto consente una riduzione dei tempi e dei costi della diagnosi, oltre che una semplificazione delle procedure.
Un'alternativa ai metodi molecolari, anche questa in grado di garantire una maggiore sensibilità rispetto alla microscopia, è rappresentata dai metodi immunologici di ricerca di antigeni parassitari, o di anticorpi specifici. Questi metodi possono presentare importanti vantaggi, come i costi ridotti e la possibilità di sviluppare formati adatti alla diagnosi point-of-care, di grande utilità nei paesi tropicali. In questo campo una importante innovazione è data dall'utilizzo di nano anticorpi (nanobodies, Nb). I Nb sono anticorpi a singolo dominio (VHH) del peso di circa 90 kDa ottenuti dai camelidi, e sono caratterizzati da scarsa immunogenicità, alta solubilità e stabilità al calore, alta affinità e specificità per gli antigeni target, e facile ingegnerizzazione. Molte aziende hanno già sviluppato prodotti a base di Nb, candidati per la terapia di tumori, malattie infiammatorie e neurodegenerative. Per quanto riguarda le malattie tropicali neglette, diversi studi documentano la possibilità di utilizzare Nb sia a scopo diagnostico che terapeutico. Un esempio significativo in ambito parassitologico è dato dalla tripanosomiasi africana. Sono stati infatti ottenuti Nb specifici per la proteina PFR (Para Flagellar Rod) dei tripanosomi, che si sono dimostrati efficaci nell'identificazione di questi parassiti in immunofluorescenza e citometria di flusso. E' stato possibile ottenere anche Nb in grado di riconoscere epitopi conservati dei VSG (Variant Surface Glycoproteins), inaccessibili agli anticorpi convenzionali, dimostrando come sia possibile sviluppare test di ricerca dell'antigene per una diagnosi rapida della tripanosomiasi africana. Ulteriori esempi del possibile utilizzo di Nb sono dati da test di ricerca dell'antigene per la diagnosi di schistosomiasi e cisticercosi.