

zare un sistema di Biobanking con alcune sue applicazioni pratiche.

Materiali e Metodi. Un prelievo di sangue viene effettuato nei pazienti inclusi nei diversi protocolli di studio, in quelli oncologici e/o HIV+ in follow-up. Si ricavano almeno due (o più) aliquote di siero, plasma e PBMCs, immediatamente storate a -80°C . Alcuni studi prevedono inoltre una biopsia (epatica, rinofaringea). Database separati ed in formati diversi raccolgono informazioni anagrafico/cliniche incrociate mediante una chiave anagrafica tramite il SAS® e fornite anonime agli utenti. Archivi esterni al reparto (es. epidemiologici) possono essere inclusi ai fini di stratificazione, confondimento e interazione. Istruzioni, in chiaro e peer-reviewed dagli utenti stessi, gestiscono l'input, il merge, le statistiche ed i report, con possibilità per gli utenti di creare funzioni aggiuntive.

Risultati. Da Ottobre 1999 a Dicembre 2002 sono stati raccolti campioni di plasma, siero e PBMCs con diversa tempistica da 613 pazienti HIV+ e 384 pazienti HIV- afferenti al nostro Istituto. Sono stati classificati: 70 NHL HIV+ e 142 NHL HIV-; 16 HD HIV+ e 35 HD HIV-; 11 MM HIV- e 1 MM HIV+; 17 KS HIV+; 42 UCNT. Applicazioni pratiche del metodo: studio sulla correlazione dei livelli di HCV-RNA su siero e su biopsia epatica in pazienti HIV-HCV coinfeziti durante il follow-up clinico-terapeutico (Tedeschi et al. J Clin Microbiol); studio sull'associazione tra reattività anticorpale verso *Borrelia* e NHL cutaneo (Dal Maso et al. submitted).

Considerazioni Conclusive. Il Biobanking consente di accumulare un largo numero di campioni per studi sierologici e molecolari di varia natura, di aumentare la potenza degli studi e rendere possibili esperienze intercollaborative e interscambi di materiale. E' inoltre di stimolo ad un controllo di qualità per lo stoccaggio dei campioni. Tale sistema, in continuo aggiornamento, richiede un notevole impegno sia nel trattare i campioni e i dati che nel raccogliarli (schede pazienti) e non meno delicati sono gli aspetti etici e legali.

CO1.3

DIAGNOSI DI LABORATORIO DI AMEBIASI MEDIANTE REAZIONE POLIMERASICA A CATENA (PCR)

Calderaro A., Bommezzadri S, Incaprera M., Piccolo G., Zuelli C., Guégan R., ¹Villanacci V., ²Pirali F., ²Viviani G., Arcangeletti M.C., Medici M.C., Dettori G., Chezzi C.

Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Sezione di Microbiologia, Università di Parma, Viale Gramsci 14 43100 Parma;

¹Secondo Dipartimento di Patologia Chirurgica, Spedali Civili, Università di Brescia, via Spedali Civili 1, 25123 Brescia;

²Ospedale S. Orsola Fatebenefratelli, Brescia.

Introduzione. Al fine di superare i limiti dell'indagine microscopica e di ridurre i tempi necessari per una corretta identificazione di *E. histolytica*, agente eziologico di amebiasi intestinale ed extra-intestinale e di *E. dispar* non patogena, è stato introdotto nel nostro laboratorio un idoneo saggio basato sulla reazione polimerasica a catena (PCR).

Materiali e Metodi. Sono stati sottoposti all'esame microscopico, culturale, ricerca degli antigeni specifici di *E. histolytica* e *E. dispar* e alla PCR, campioni di feci e aspirato da ascesso epatico di un paziente con addome acuto e appendicite complicata di incerta eziologia e campioni di feci e biopsie intestinali ottenuti da un secondo paziente con sospetto morbo di Crohn. Per la PCR, il DNA è stato estratto con il sistema "HPPT" (Roche), amplificato con i "primers" EHD2/EDh26 (*E. histolytica*) e i "primers" EHD2/ED27 (*E. dispar*) e il prodotto (135 pb) rivelato mediante elettroforesi in gel di agarosio. Anticorpi specifici anti *E. histolytica* sono stati ricercati in campioni di sangue di entrambi i pazienti.

Risultati e Conclusioni. Nel primo caso (sospetta amebiasi), la PCR ha consentito di confermare la diagnosi sierologica di amebiasi extra-intestinale (titolo 1:1024) rivelando la presenza del DNA di *E. histolytica* nell'aspirato da ascesso epatico quando i metodi tradizionali (esame microscopico e culturale) hanno dato esito negativo.

Nel secondo caso (sospetto morbo di Crohn), la PCR è stata di valido supporto all'esame microscopico e culturale nell'identificazione rapida di *E. histolytica* isolata dal campione di feci. Inoltre, il ritrovamento del DNA dell'ameba nelle biopsie della mucosa colica ha consentito di porre rapidamente una corretta diagnosi di amebiasi confermando la diagnosi sierologica (titolo 1:1024). Infine, nelle biopsie coliche dello stesso paziente è stato ritrovato anche il DNA di *Brachyspira pilosicoli* e di *B. aalborgi* dimostrando, per la prima volta in assoluto, una coinfezione da ameba e spirochete intestinali.