



UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
MODENA E REGGIO EMILIA

Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze
Morfologiche con interesse Trapiantologico, Oncologico e di
Medicina Rigenerativa

CORSO DI LAUREA IN TECNICHE DI LABORATORIO
Presidente: Prof. Claudio Cermelli

**TITOLO TESI DI LAUREA: TIPIZZAZIONE HLA. TEST MOLECOLARI IN USO
PRESSO IL LABORATORIO DI TIPIZZAZIONE TISSUTALE DEL SERVIZIO
IMMUNOSTRASFUSIONALE AOU POLICLINICO DI MODENA**

STUDENTE: Alessia Barbieri
RELATORE: Giovanni Battista Ceccherelli
CORRELATORE: Marina Stefani

A. 2018/2019

TESI SPERIMENTALE COMPILATIVA

MESE ED ANNO DI LAUREA: Aprile 2020

RIASSUNTO O ABSTRACT (max 3000 caratteri):

Il sistema HLA è un insieme di antigeni glicoproteici di superficie del sistema immunitario di fondamentale importanza per tutte le risposte immunitarie, permettendo di rendere riconoscibili ai linfociti T i peptidi antigenici. I geni che codificano gli antigeni HLA sono localizzati sul braccio corto del cromosoma 6 e sono parte della regione conosciuta come MHC (Major Histocompatibility Complex). Sono suddivisi in due classi principali: gli antigeni di classe I si trovano sulla superficie di tutte le cellule nucleare, mentre quelli di classe II si trovano sulle cellule APC, sui macrofagi e sui linfociti T e B. I linfociti T riconoscono come non self strutture HLA diverse da quelle del proprio organismo. La compatibilità di un trapianto dipende fortemente da quanto simili gli HLA di donatore e ricevente. I TCSE, in particolare, possono portare a gravi sindromi acute e croniche (GVHD). Ciò comporta che questi trapianti vengano eseguiti, quando possibile, da donatori consanguinei HLA identici.

Sono state studiate le associazioni tra il sistema HLA e determinate patologie, quali:

- Celiachia, che insorge in seguito ad ingestione di glutine in soggetti geneticamente esposti, in particolare gli eterodimeri HLA-DQ2 (DQA1*05, DQB1*02) o -DQ8 (DQA1*03, DQB1*0302) positivi.
- Diabete di tipo I: malattia autoimmune multifattoriale, determinata sia da fattori genetici che ambientali. Più del 90% dei pazienti di origine caucasica sono portatori dell'aplotipo DRB1*0301-DQA1*0501-DQB1*0201 o DRB1*0401-DQA1*0301-DQB1*0302.
- Spondilite anchilosante: di causa sconosciuta, si osserva un forte effetto genetico spiegato dall'antigene HLA-B27, la cui frequenza è del 6-8% nella popolazione caucasica, ma solo il 5% dei soggetti HLA-B27 positivi sviluppa malattia.

Importante anche l'ipersensibilità ai farmaci, che affligge circa il 7% della popolazione. Il trattamento farmacologico dell'infezione da HIV tramite Abacavir presenta un'associazione con il sistema HLA e l'ipersensibilità al trattamento stesso, in particolare in presenza dell'allele HLA-B*5701.

Il laboratorio HLA del policlinico di Modena esegue la tipizzazione HLA per pazienti donatori di midollo, testa i loci che presentano associazione con patologie a forte componente autoimmune più comuni nella nostra popolazione e di ipersensibilità al farmaco Abacavir, partecipa al programma controlli di qualità esterni della "UCLA International DNA Exchange". Per questi esami vengono utilizzati:

- Kit PCR-SSP per la tipizzazione in bassa risoluzione
- Kit PCR-SSP per la tipizzazione in alta risoluzione
- Kit PCR-SSO per la tipizzazione in medio-alta risoluzione: usato il testo HISTO SPOT, in combinazione con lo strumento MR.SPOT che esegue test di reverse dot blot su array e consente di automatizzare completamente le fasi di lavaggio e ibridazione.

Modena, 23/04/2020

Firma studente

Firma relatore

Firma correlatore



UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
MODENA E REGGIO EMILIA

TITOLO TESI DI LAUREA: Attività antimicrobica e antibiofilm della propoli: uno studio in vitro su un ceppo bioluminescente di *Pseudomonas aeruginosa*

STUDENTE: SOGAH KWAMI

RELATORE: Prof.ssa Blasi Elisabetta

CORRELATORE: Dott.ssa Meto Aida, Sig.ra Colombari Bruna

A.A:2018-19

TESI SPERIMENTALE

MESE ED ANNO DI LAUREA: Aprile 2020

Abstract Tesi Kwami Sogah

BASE: *Pseudomonas aeruginosa* è un batterio Gram negativo di forma bastoncellare; è un patogeno opportunisto particolarmente temuto in ambito ospedaliero, in quanto spesso responsabile di infezioni respiratorie e urinarie, associate a notevole farmacoresistenza. La propoli è una sostanza malleabile prodotta dalle api; composta di più 300 diversi composti, ha un'attività batteriostatica ed antifungina e viene utilizzata, a livello clinico, nel trattamento di infezioni micotiche e batteriche e in diverse patologie di tipo infiammatorio.

SCOPO: In questo lavoro di tesi, è stata valutata *in vitro* l'efficacia di propoli nei riguardi di *P.aeruginosa*, in termini di inibizione della crescita microbica, della formazione di biofilm o della persistenza di biofilm già formato.

MATERIALI E METODI: È stato utilizzato un ceppo batterico ingegnerizzato, che emette costitutivamente un segnale bioluminescente; tale segnale, rilevabile in tempo reale mediante lettore "FLUOROSKAN", è misura diretta della quantità di cellule vitali. Sono stati utilizzati terreni di coltura standard e soluzione salina per allestire le sospensioni batteriche. Gli estratti di propoli sono stati preparati in etanolo (EtOH), in propilenglicole (PG) e in polietilenglicole (PEG 400). L'attività anti-*P.aeruginosa* di propoli è stata valutata misurando le MIC (Concentrazione Minima Inibente) degli estratti di propoli secondo un protocollo di riferimento. L'effetto di

propoli sulla crescita microbica, sulla formazione di biofilm e su un biofilm preformato è stato valutato con il saggio di bioluminescenza.

RISULTATI: Gli estratti di propoli, ottenuti con i tre diversi solventi (EtOH, PG e PEG 400), risultano quali-quantitativamente comparabili per contenuto dei principali componenti fenolici. La MIC degli estratti di propoli in EtOH e in PG è pari a 15.6 µg/ml, mentre la MIC di dell'estratto in PEG 400 è 4 volte superiore (62.5 µg/ml). L'estratto di propoli EtOH è il più efficace nel ridurre la crescita di *P.aeruginosa*; l'efficacia degli altri estratti è parziale ed influenzata dalla tossicità del solvente. L'estratto di propoli EtOH riduce drasticamente la formazione di biofilm (81%). Gli estratti di propoli, PG e PEG 400, riducono parzialmente la formazione del biofilm (41% e 43%, rispettivamente); tali effetti sono parzialmente compromessi dalla tossicità dei solventi. Nessuno dei 3 estratti di propoli è efficace nel ridurre un biofilm preformato.

CONCLUSIONE: Considerata la rilevanza clinica di *P. aeruginosa* e alla luce dei risultati ottenuti, l'utilizzo di un prodotto naturale come la propoli potrebbe essere una fonte preziosa per lo sviluppo di nuove strategie anti-microbiche, possibilmente scevre dal rischio di promuovere l'insorgenza di farmaco-resistenza.