



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: Tessuto Gengivale e Liquido Crevicolare: Analisi Proteomica per la Ricerca di Biomarcatori Diagnostici di Parodontite

STUDENTE: Deborah Cornia
RELATORE: Stefania Bergamini
CORRELATORE: Elisa Bellei

A.S. 2018/2019

TESI SPERIMENTALE COMPILATIVA

MESE ED ANNO DI LAUREA: Giugno 2019

RIASSUNTO O ABSTRACT (max. 3000 caratteri):

Stato dell'arte

La parodontite è una patologia infiammatoria del parodonto caratterizzata da un progressivo riassorbimento osseo, dalla formazione di una tasca parodontale e che, se non curata, può portare alla caduta dei denti. La diagnosi di parodontite si basa sul sondaggio parodontale e indagini radiografiche

Scopo

Lo studio eseguito è scaturito dall'esigenza di individuare biomarcatori diagnostici e predittivi di parodontite. A tale scopo il proteoma del tessuto gengivale (TG) e del liquido crevicolare gengivale (GCF) di pazienti (n =10) affetti da parodontite sono stati analizzati mediante elettroforesi mono e bidimensionale (1-DE e 2-DE)

Materiali e metodi

L'analisi proteomica è stata eseguita su campioni di TG e GCF prelevati in corrispondenza della tasca parodontale

Fase preparativa (estrazione proteica) dei campioni. Eseguita considerando la quantità esigua e la natura dei campioni. Valutate per i campioni di TG due metodiche: frammentazione del campione mediante mortaio e pestello e frammentazione con pestello a motore (metodica migliore)

Analisi 1-DE: eseguita sui campioni di GCF e TG denaturati utilizzando gel precast Bolt a gradiente 4-12% di Poliacrilammide. Le proteine, separate in bande, sono state quindi evidenziate con colorazione Coomassie Blue G-250

Analisi 2-DE: eseguita utilizzando IPG strip di 7 cm e range di pH 3-10 (separazione in prima dimensione) e gel a gradiente 8-16% di Poliacrilammide (separazione in seconda dimensione). Le proteine sono state evidenziate sotto forma di spot con colorazione Silver Stain

Acquisizione ed analisi di immagine dei gel: le immagini dei gel 1-DE e 2-DE sono state acquisite con densitometro calibrato serie GS800 ed analizzate (1-DE) con software "Quantity One"

Risultati

Analisi 1-DE: per tutti i campioni TG sono state ottenute corse elettroforetiche con bande ben definite; per i campioni GCF invece tali risultati sono stati ottenuti solo in 2 campioni: nelle corse elettroforetiche di 5 campioni di GCF infatti le bande erano numericamente inferiori e meno intense. L'analisi 2-DE (metodica più sensibile) ha confermato i risultati 1-DE: ottenute mappe proteiche con numerosi spot ben definiti per tutti i campioni TG e solo in 2 campioni GCF

Discussione

I risultati ottenuti dimostrano che:

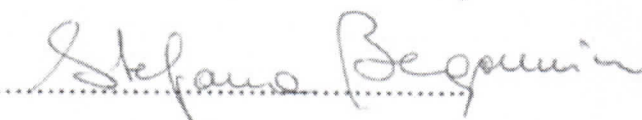
- è possibile analizzare il profilo proteomico del TG: la fase preparativa è stata ottimizzata (ottenuti buoni risultati in termini di dosaggio proteico, analisi 1-DE e 2-DE)
- l'analisi proteomica del GCF necessita ancora di protocolli ottimizzati


Conclusioni

Al fine di individuare possibili biomarcatori diagnostici e predittivi di parodontopatia mediante tecniche proteomiche è necessario aumentare la casistica al fine: (1) confermare i risultati ottenuti con l'analisi del TG; (2) verificare se i risultati non soddisfacenti ottenuti con l'analisi del GCF siano da attribuirsi ad una errata preparazione del campione o alle caratteristiche proprie dei pazienti analizzati o alle variabilità di ottenimento dei campioni di GCF

Modena, 21/05/2020

Firma studente 

Firma relatore 

Firma correlatore 



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: "Determinazione dell'aplotipo del recettore dell'ormone follicolo-stimolante (FSH) in cellule ovariche di pazienti normo- e sub-responsive al trattamento per la fecondazione assistita"

NOME - COGNOME STUDENTE: SIMONE FRANCESCO GRADELLINI

NOME - COGNOME RELATORE: Dott. Livio Casarini

NOME - COGNOME CORRELATORE (SE PRESENTE): Dott. Ssa Samantha Sperduti
Dott. Ssa Claudia Anzivino

A.A: 2018/2019

TESI SPERIMENTALE COMPILATIVA

MESE ED ANNO DI LAUREA: Giugno 2020

RIASSUNTO O ABSTRACT (max 3000 caratteri):

Introduzione. L'attività ovarica è controllata dalle gonadotropine, tra le quali l'ormone follicolo-stimolante (FSH), che induce la maturazione dell'ovocita attraverso il legame ad uno specifico recettore (FSHR) espresso nell'ovaio. Di questo recettore, così come di FSH, ne esistono diverse isoforme date da polimorfismi singolo nucleotide (SNPs) in grado di influenzare la risposta ovarica. La stimolazione ovarica può essere effettuata anche clinicamente, somministrando gonadotropine esogene nell'ambito dei protocolli di fecondazione assistita. Le pazienti sottoposte a tali trattamenti sono caratterizzate quindi da risposta ovarica individuo-specifica e sono identificabili in "*normo-responders*" e "*poor/sub-responders*", a seconda che risultino in ≥ 10 ovociti maturi per ciclo di trattamento oppure < 10 rispettivamente.

Scopo. Lo scopo di questa tesi è confrontare la frequenza degli aplotipi di *FSHR*, in cellule della granulosa (hGLC) di pazienti *normo-responders* e *sub-responders*.

Materiali e metodi. Nello studio sono state prese in esame 46 pazienti, che si sono sottoposte a prelievo ovocitario per fecondazione assistita presso l'Ospedale Santa Matia Nuova di Reggio Emilia. Dal liquido follicolare raccolto di ciascuna paziente sono state isolate le hGLC e ne è stato estratto il DNA. A seguito dell'amplificazione della regione *target* con metodica PCR, i campioni sono stati genotipizzati per gli SNPs di *FSHR* rs1394205, rs6165 e rs6166 mediante *high-resolution melting* e sequenziamento Sanger.

Risultati. Per il polimorfismo rs1394201, l'allele con minore frequenza (MAF) è rappresentato nel 34% delle *sub-responders*, mentre è significativamente meno rappresentato (19%) nelle *normo-responders*. Invece, dall'analisi della frequenza allelica relativa agli SNPs rs6165 e rs6166 non sono emerse differenze statisticamente significative tra i due gruppi.

Conclusioni. I risultati ottenuti confermano che lo SNP di *FSHR* rs1394205 può essere considerato un marker di risposta ovarica e dovrebbe essere valutato per personalizzare i protocolli di stimolazione ovarica, aggiustando la dose di FSH utilizzata nell'ambito della fecondazione assistita.

Luogo, data Modena, 27/05/20

Firma studente Simone Francesco Cecodellini

Firma relatore Nino Leggeri

Firma correlatore Susanna Spadati

Clara



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: Identificazione di batteri responsabili di infezioni respiratorie mediante Real Time PCR multiplex

NOME - COGNOME STUDENTE: Isabella Incerti

NOME - COGNOME RELATORE: Monica Pecorari

NOME - COGNOME CORRELATORE (SE PRESENTE): William Gennari

A.A: 2018/2019

TESI SPERIMENTALE



COMPILATIVA



MESE ED ANNO DI LAUREA: Giugno 2020

RIASSUNTO O ABSTRACT (max 3000 caratteri):

Le infezioni del tratto respiratorio, principalmente sotto forma di polmoniti, sono un'importante causa di morbilità e mortalità, soprattutto in bambini ed anziani. Queste sono suddivisibili in polmoniti tipiche, principalmente causate da patogeni quali *S. pneumoniae* ed *H. influenzae*, e polmoniti atipiche, attribuite a *C. pneumoniae*, *M. pneumoniae* e *L. pneumophila*. Altri patogeni spesso coinvolti in infezioni respiratorie e pertanto considerati ai fini dello studio sono *B. pertussis* e *B. parapertussis*.

Lo scopo della presente tesi è valutare la presenza di tali microrganismi in campioni respiratori di pazienti con polmonite, afferenti all'Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico di Modena nel periodo gennaio – luglio 2019. Sono stati considerati 1.637 campioni appartenenti a 1.608 pazienti di età superiore a 20 anni. Questi campioni sono stati poi suddivisi per fascia d'età, tipologia di campione e reparto di provenienza.

I campioni sono stati analizzati con il sistema Allplex Respiratory Panel 4 (Seegene, South Korea), il quale si basa sulla combinazione di due tecnologie: Dual Priming Oligonucleotide (DPO) e Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension (TOCE). Il vantaggio di questo sistema è la rilevazione dei patogeni d'interesse contemporaneamente in un'unica reazione fornendo un dosaggio semi-quantitativo.

Grazie all'elevata sensibilità e specificità analitica, è stato possibile determinare quali dei patogeni sopra citati sono più facilmente riscontrabili in un contesto di infezione delle vie respiratorie. In particolare, sono state riscontrate 326 positività, delle quali più della metà sono attribuibili a *S. pneumoniae*. Non sono invece stati individuati campioni positivi a *B. pertussis/parapertussis*. La fascia d'età più colpita è risultata essere quella compresa tra 60 e 80 anni mentre la maggior parte delle positività è stata rilevata in campioni provenienti dalle basse vie respiratorie, sebbene questi fossero numericamente inferiori rispetto a campioni delle alte vie respiratorie.

In definitiva, grazie alle indagini molecolari eseguite, in questo studio è stato possibile evidenziare la presenza di agenti batterici in pazienti adulti con infezione respiratoria in modo rapido ed accurato, permettendo una diagnosi veloce da cui scaturirà un intervento terapeutico adeguato.

Modena, 20/05/20

Firma studente

Isabella Incerti

Firma relatore

Monica Pecorari

Firma correlatore

William Gennari



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:

Interazioni tra *Lactobacillus rhamnosus* e HSV-2 su un modello in vitro di epitelio vaginale

STUDENTE: Raffaella Mediatore

RELATORE: Prof. Claudio Cermelli

CORRELATORE: Dott.ssa Arianna Sala

A.A: 2018/2019

TESI SPERIMENTALE COMPILATIVA

MESE ED ANNO DI LAUREA: giugno 2020

RIASSUNTO O ABSTRACT (max 3000 caratteri):

Molti studi hanno dimostrato come i lattobacilli svolgano un ruolo importante nel mantenimento di un sano microbiota vaginale proteggendo l'ambiente vaginale da disbiosi e microrganismi patogeni mediante vari meccanismi come produzione di sostanze antimicrobiche, competizione per spazi e nutrienti e stimolazione del sistema immunitario dell'ospite.

L. rhamnosus non rappresenta uno dei batteri maggiormente presenti a livello vaginale, ma è un lattobacillo probiotico indagato per il possibile utilizzo terapeutico mediante somministrazione orale per ridurre la colonizzazione vaginale di batteri potenzialmente patogeni e lieviti.

Avendo questo lattobacillo già mostrato effetti antivirali contro entrambi i virus dell'Herpes Simplex, siamo andati a valutare l'azione di *L. rhamnosus* in varie fasi dell'infezione virale di HSV-2, utilizzando un modello in vitro di epitelio vaginale che simula fedelmente la situazione in vivo.

Luogo, data *Corpi, 27/05/2020*

Firma studente *Raffaella Mediatore*

Firma relatore CERMELLI
CLAUDIO
27.05.2020
15:03:04
UTC

Firma correlatore *Arianna Sala*



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: Orientamento delle biopsie intestinali nella diagnosi delle MICI: ruolo del tecnico di laboratorio

STUDENTE: Giulia Salvatori

RELATORE: Luca Reggiani Bonetti

CORRELATORE: Stefania Caramaschi

A. A. 2018/2019

TESI SPERIMENTALE

COMPILATIVA

MESE ED ANNO DI LAUREA: Giugno 2020

RIASSUNTO O ABSTRACT (max 3000 caratteri):

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) comprendono la rettocolite ulcerosa (RCU) e il Morbo di Crohn (MC). Esse mostrano un'incidenza in continuo incremento in tutto il mondo e in tutte le fasce sociali. In particolare si osservano due picchi di incidenza: il primo esordisce prima dei 30 anni, in genere fra i 14 e i 24 anni, il secondo dopo i 50 anni. I pazienti con MICI presentano generalmente sintomi addominali che comprendono dolore addominale, senso di pienezza e di malessere generalizzato, a volte con andamento intermittente che si associa a diarrea cronica, accompagnata da perdita di muco con le feci (mucorrea) e scariche emorragiche. La diagnosi istopatologica è fondamentale per definirne la natura, il grado di infiammazione e lo stato di attività o quiescenza. È quindi fondamentale la corretta valutazione istologica delle biopsie che devono essere trattate con cura. L'elaborato si presta a mostrare e a spiegare una procedura innovativa ed efficace nel trattamento delle biopsie che è stata adottata negli ultimi anni e che coinvolge il medico endoscopista, l'infermiere di sala endoscopica, il medico anatomopatologo e il tecnico di laboratorio di anatomia patologica. Sono stati presi in considerazione 10 pazienti (6 maschi e 4 femmine) affetti da disturbi intestinali cronici, quali diarrea e dolori addominali, ma ancora privi di una diagnosi. In dettaglio: i frammenti biotipici vengono posizionati su supporto di cellulosa e inviati al laboratorio di anatomia patologica all'interno dell'apposito barattolo con formalina. Il complesso mucosa-cellulosa viene processato come le altre biopsie routinarie ed è incluso in paraffina. È in questa fase che il tecnico di laboratorio deve porre attenzione: il complesso cellulosa-mucosa viene ruotato di 90° e incluso in senza staccare nulla. Il taglio del blocchetto in sezioni di 3-4 microns non sposterà, né romperà nessun campione biotipico. Tra i vantaggi riscontrati, i più evidenti comprendono i costi ridotti nell'allestimento del preparato istologico con possibilità di risparmiare in vetrini e blocchetti, avere più frammenti nello stesso blocchetto e vetrino e di poter osservare tutti gli strati di tessuto nel preparato istologico perché il frammento è orientato.

Luogo, data Modena, li 19/05/2020

Firma studente

Salvatori Giulia

Firma relatore

Bonetti Luca

Firma correlatore

Caramaschi Stefania



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: Identificazione del virus di Epstein Barr nel Carcinoma Nasofaringeo

NOME - COGNOME STUDENTE: Gaia Vezzani
NOME - COGNOME RELATORE: Antonino Maiorana
NOME - COGNOME CORRELATORE (SE PRESENTE):

A.A: 2018/2019

TESI SPERIMENTALE COMPILATIVA

MESE ED ANNO DI LAUREA: Giugno 2020

RIASSUNTO O ABSTRACT (max 3000 caratteri):

Il carcinoma nasofaringeo è un tumore a cellule squamose che origina dal rivestimento epiteliale del nasofaringe; esso è rilevante per le marcate differenze nella distribuzione geografica (raro nella maggior parte del mondo ma piuttosto diffuso nel sud della Cina, sud Asia e nord Africa dove l'incidenza raggiunge 20. ogni 100,000 persone), razziale e per la sua associazione con il virus di Epstein Barr (EBV).

Questa tesi riguarda in particolar modo il sotto tipo istologico "carcinoma non cheratinizzante indifferenziato" che è associato al virus di Epstein Barr praticamente nel 100% dei casi, indipendentemente dall'origine etnica del paziente, perciò è importante identificarne la presenza nelle cellule tumorali.

Il modo più semplice e affidabile per l'identificazione di EBV è l'ibridazione in situ per l'RNA precoce (EBER), che è presente in abbondanza nelle cellule con infezione latente da EBV.

Lo scopo di questa tesi è quello di paragonare due metodiche per l'evidenziazione del virus di Epstein Barr nelle cellule epiteliali del carcinoma nasofaringeo; in particolare, si è provveduto a comparare una metodica CISH eseguita manualmente, con la metodica eseguita su immunocoloratore automatico Ventana.

Dagli archivi dell'Anatomia Patologica del Policlinico di Modena sono stati selezionati 14 casi di carcinoma nasofaringeo diagnosticati nel periodo 1998 - 2019, di cui 10 casi sono stati diagnosticati prima del 2017 e quindi l'evidenziazione dell'EBV era stata condotta con metodica

CISH manuale, mentre i restanti 4 casi sono stati diagnosticati dopo il 2017 e l'EBV e' stato evidenziato con Immunocoloratore automatico Ventana.

Si e' provveduto a paragonare le due metodiche tenendo conto principalmente delle seguenti caratteristiche: sensibilità della metodica, tempo necessario per la reazione, coinvolgimento del tecnico, caratteristiche della colorazione.

I risultati ottenuti hanno evidenziato che, pur non riscontrandosi una franca differenza di sensibilità tra le due metodiche, la metodica eseguita su immunocoloratore automatico Ventana presenta alcuni vantaggi, in termini di tempistica di esecuzione (più veloce dal momento che con il metodo automatico e' necessario un totale di circa 6 ore, mentre la CISH manuale la durata risulta essere di circa 12-14 ore), di caratteristiche della colorazione, in quanto nella metodica manuale la colorazione è spesso sbiadita ed i nuclei non risultano ben definiti e di coinvolgimento del tecnico, che è sicuramente minore.

Sulla base di questi risultati, si ritiene opportuno consigliare per il futuro l'uso esclusivo della metodica eseguita su immunocoloratore Ventana, cercando di limitare la tecnica manuale soltanto alle situazioni di cattivo funzionamento o eventuale rottura dello strumento automatico.

Luogo, data Modena 26/05/20

Firma studente *Gaia Verzani*

Firma relatore *A. Maiorana*

Firma correlatore

Prof. A. Maiorana
Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia
DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE
MATERNO INFANTILI E DELL'ADULTO