



Università degli Studi
di Napoli Parthenope

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI BIOLOGICI

CORSO DI
CHIMICA BIOANALITICA

A CURA DI:

ROMEO BORRELLI - MAT.0123002780

ANDREA CITARELLA - MAT.0123002543

ELENA CANZANELLA - MAT.0123002869

MAURIZIO GRAZIANO - MAT.0123002798

GIULIO GRIECO - MAT.0123002779

LEANDRO REGA - MAT.0123002768

GENNARO VARONE - MAT.0123002907



INDICE

- LE MATRICI
- IL SANGUE
- LE CELLULE
- I TESSUTI
- IL LIQUIDO CEREBROSPINALE
- IL LIQUIDO SINOVIALE
- IL FLUIDO GASTRICO
- LA BILE
- L'UMOR VITREO
- LA SALIVA
- I CAPELLI
- LE URINE
- IL LIQUIDO SEMINALE
- LE FECI
- LA CONSERVAZIONE E IL TRASPORTO
DEI CAMPIONI BIOLOGICI

Matrici



- Convenzionali
- Non convenzionali
- Surrogate/simulate



Matrici convenzionali

- Plasma
- Siero
- Urine
- Feci

Matrici non convenzionali

- Saliva
- Bulbo pilifero
- Umor vitreo
- Sudore
- Formazioni cheratiniche
- Liquido cerebrospinale

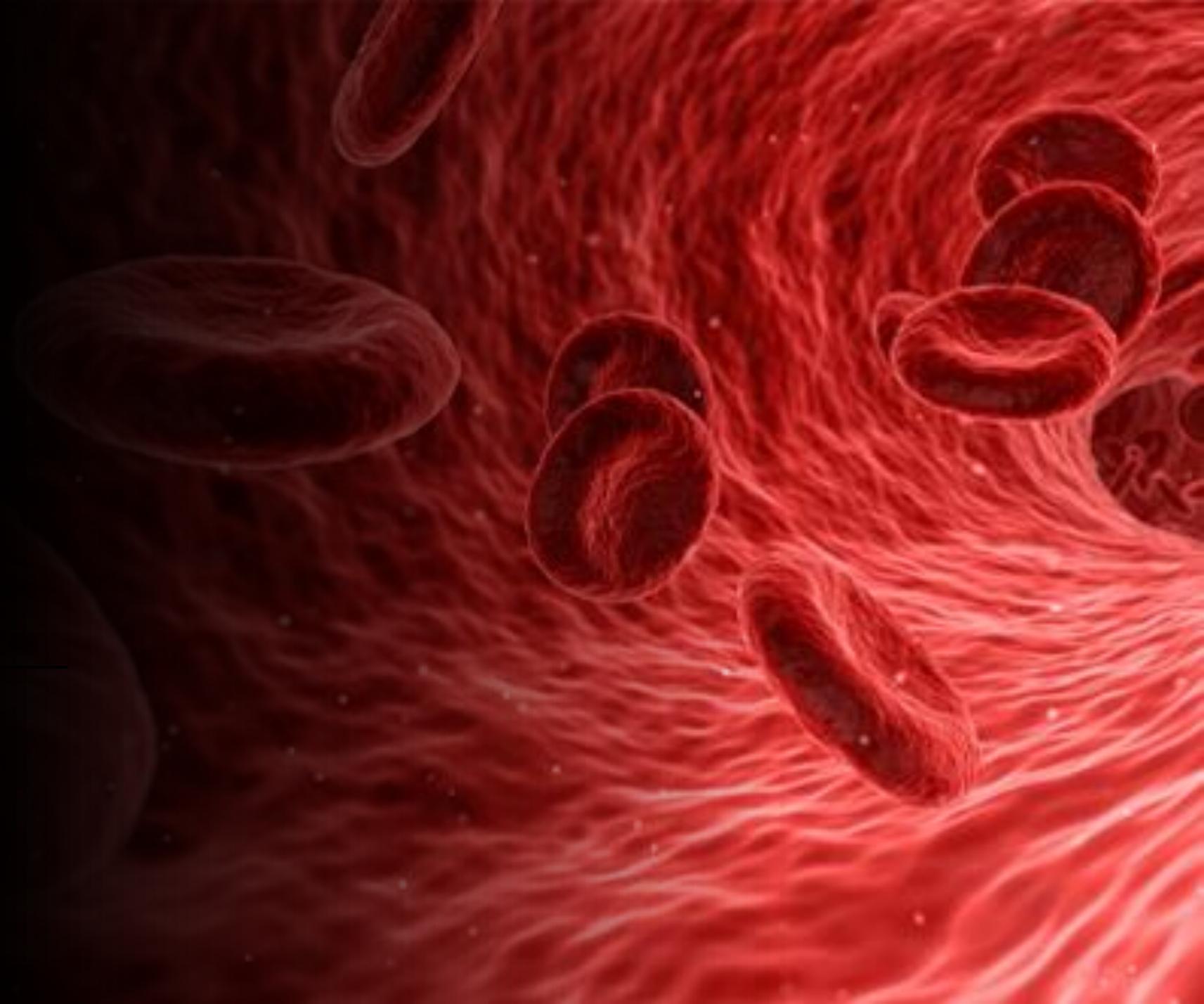
A hand in a blue nitrile glove is shown holding a syringe with a needle. The scene is set on a light blue surgical drape. In the background, there is a white surgical mask and a blue surgical cap. In the foreground, two small glass vials with black caps are visible; one contains a blue liquid and the other a green liquid. Several other syringes are scattered on the drape. The overall lighting is dim, with a blue color cast.

Prelievo del campione

- Invasivo

- Non invasivo

Il Sangue

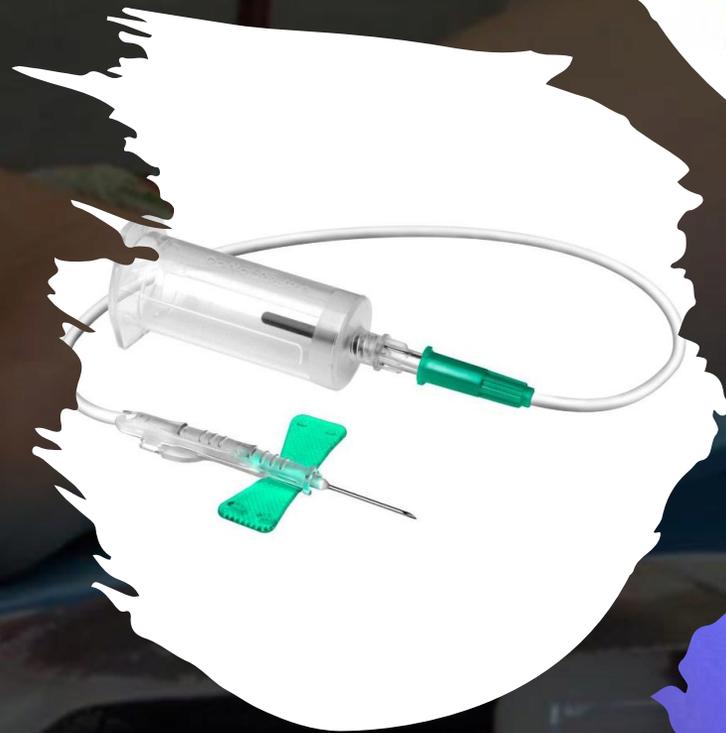


Composizione

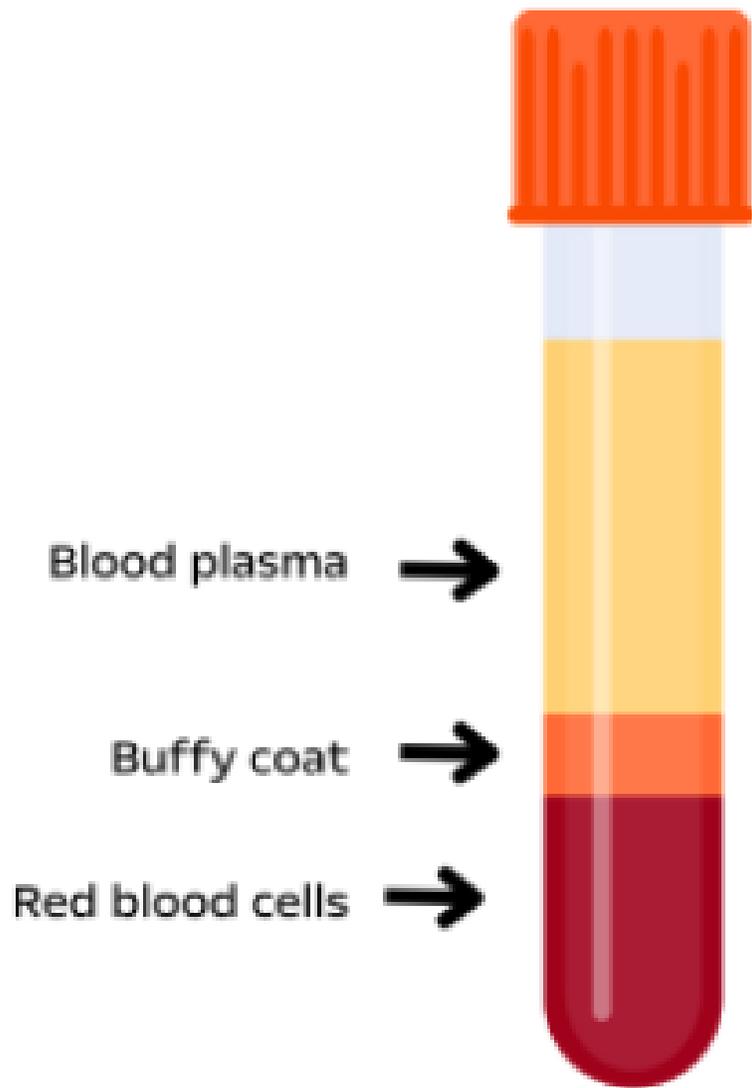
| | Percentuale | Componenti | | Funzioni |
|-------------------------|--------------------|------------------|--|--|
| Componente corpuscolata | 45% | Eritrociti | | Trasporto ossigeno |
| | | Leucociti | | Difensiva |
| | | Piastrine | | Coagulativa |
| Plasma | 55% | Acqua (91%) | | |
| | | Elettroliti (1%) | Sodio, potassio, magnesio, calcio, cloruro, bicarbonato, fosfato | Controllo pH, bilancio osmotico, regolazione permeabilità delle membrane cellulari |
| | | Proteine (7%) | Albumina | Bilancio osmotico |
| | | | Fibrinogeno | Coagulazione |
| | | | Globuline β | Trasporto |
| | | | Immunoglobuline A | Difensiva |
| | | Altro (1%) | Nutrienti | |
| | | | Gas respirazione | |
| | | | Ormoni | |
| | Prodotti di scarto | | | |

Prelievo

- Sangue venoso
- Sangue arterioso
- Sangue capillare



Plasma vs Serum



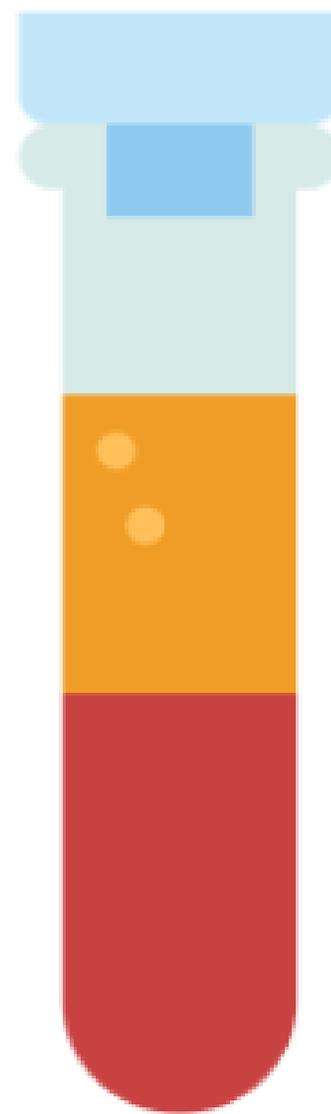
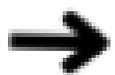
Blood plasma



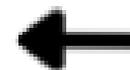
Buffy coat



Red blood cells



Serum



Blood Clot



$$g = 1.118 \cdot 10^{-5} \cdot r \cdot N^2$$

| <i>Prelievo</i> | <i>Colore</i> | <i>Additivo</i> | <i>Uso clinico/test</i> |
|------------------------|--|--|------------------------------|
| Raccolta siero | Rosso  | — | Biochimica, TDM, immunologia |
| | Giallo  | Gel (sterile) | Biochimica, TDM, immunologia |
| Raccolta sangue intero | Lavanda  | EDTA | Ematologia, banca del sangue |
| | Nero  | ESR | Sedimentazione |
| Raccolta plasma | Grigio  | Fluoruro di sodio e ossalato di potassio | Glucosio |
| | Azzurro  | Sodio citrato | Coagulazione |
| | Verde  | Eparina (litio o sodio) | Chimica |

Conservazione dei campioni di sangue

| | |
|--------------------|------------------------------------|
| Refrigerazione | 2 °C-8 °C / max 48h |
| Congelamento | -80 °C<-20 °C /max 2 mesi |
| Liofilizzazione | Temperatura ambiente /diversi anni |
| Uso di conservanti | Variabile |

Studio che analizza il profilo proteico dei campioni ematici conservati di siero, EDTA-plasma, eparina-plasma e sodio citrato-plasma.

Inoltre si compara la quantità di 6 proteine abbondanti al variare del metodo di conservazione

Impact of blood sample collection methods on blood protein profiling studies

Maria Ilies, Cristina Adela Iuga, Felicia Loghin, Vishnu Mukund Dhople, Thomas Thiele, Uwe Völker, Elke Hammer

PII: S0009-8981(17)30219-X

DOI: [doi: 10.1016/j.cca.2017.05.030](https://doi.org/10.1016/j.cca.2017.05.030)

Reference: CCA 14757

To appear in: *Clinica Chimica Acta*

Received date: 27 April 2017

Revised date: 16 May 2017

Accepted date: 25 May 2017

1 Material and methods

1.1 Study design and sampling

6 healthy volunteers (3 males, 3 females) aged 24-29 years without documented chronic disease or medications were enrolled in this study. 4 venous blood samples were drawn from each subject using standard venipuncture technique at the blood donation facility of the University Medicine of Greifswald, Germany. The different samples were collected into the following BD Vacutainer® tubes (Becton Dickenson, Heidelberg, Germany): (i) ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), (ii) sodium heparin, (iii) sodium citrate, and (iv) serum separator SST™ II Advance tubes. Sample collection tubes characteristics are provided in Table 1 of Ref. [16]. All 24 plasma and serum samples were obtained following the manufacturer's protocol and aliquots of 500 µL each were stored at -80 °C. The study was conducted in accordance with the WMA Declaration of Helsinki, and written informed consent was sought from all study participants prior to the sample collection. The study was approved by the Ethics Committee of the University Medicine Greifswald, Germany

4 Conclusions

This study unraveled decisive aspects of the sample collection method onto the blood protein pattern. The following conclusions can be made and they will assist in the planning of future investigations for blood protein profiling. The sample collection methods analyzed did not influence the 6 highly abundant proteins: serum albumin, serotransferrin, IgG, haptoglobin, IgA and α -1-antitrypsin. Also, they did not influence their depletion using the immunoaffinity MARS6 column. As such, this depletion method can be successfully employed with a very good depletion efficiency. Sample collection methods did not severely influence the number of quantifiable proteins. Therefore, even if several specimens obtained by different sample collection methods are included in a study, a large number of proteins can be reliably quantified. Though, protein variation was influenced by the sample collection method, in our study heparin plasma and serum samples had the lowest CV at protein level. 187 proteins defined a very stable blood protein core set. In addition, complement factor I could be a potential candidate for normalization between different sampling methods. Moreover, unique proteins that were specific to the sample collection method could be uncovered. As expected, sample collection methods need to be considered essential preanalytical players in blood profiling for biomarker screening.

Articolo che descrive la Proteina C Reattiva e ne evidenzia l'importanza come biomarker per infiammazioni in fase acuta o nello screening di diverse patologie.

Caractéristiques immunoanalytiques de la protéine C-réactive et de la protéine C-réactive ultrasensible

Immunoanalytical characteristics of C-reactive protein and high sensitivity C-reactive protein

Variations pathologiques

La CRP représente, avec la procalcitonine, le meilleur outil pour un diagnostic rapide et précoce des infections bactériennes ou fongiques en attendant les résultats microbiologiques [5]. En cas d'infection, les chiffres de CRP retenus comme pathologiques dépassent 10 à 15 mg/L [10]. Pour le diagnostic de sepsis et pour des seuils variant de 40 à 100 mg/L, la sensibilité de la CRP va de 71 à 100 % et la spécificité de 66 à 85 % selon les études. En néonatalogie, le dosage sérié de la CRP à 24 et à 48 heures après le début de l'antibiothérapie a une valeur prédictive négative de 99 % afin d'éliminer les nouveau-nés non infectés [10]. Elle est également très utile dans l'appréciation de l'efficacité et la durée de l'antibiothérapie [5, 10].

La CRP s'élève constamment en phase post-opératoire avec un pic se situant à 48-72 heures et se normalise en 7 à 10 jours. Une CRP qui reste élevée (50 à 100 mg/L) après ce délai évoque une complication infectieuse [5].

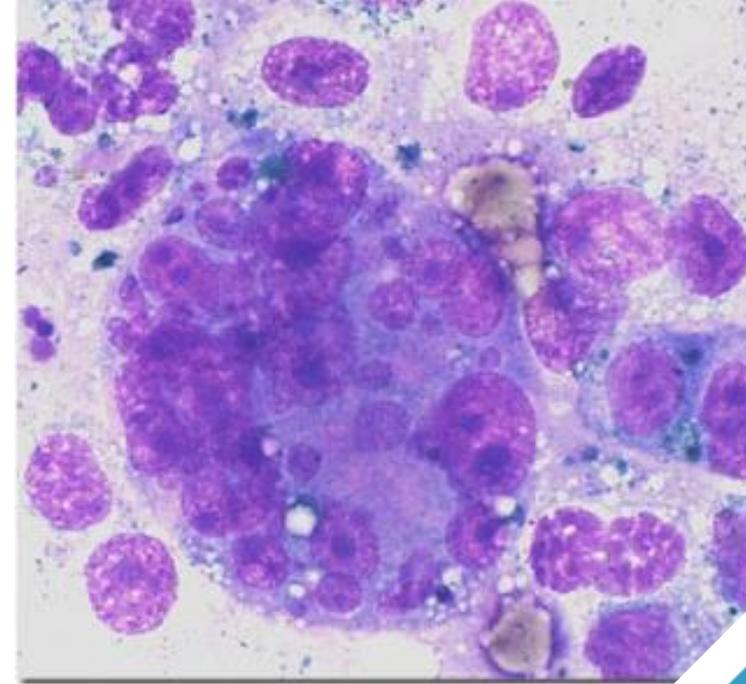
La CRP est utilisée pour apprécier l'activité des maladies de système comme la polyarthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn et les vascularites. Elle permet également la surveillance thérapeutique des patients atteints de ces pathologies. Dans le lupus, la CRP est peu élevée (< 50 mg/L) [5].

Vu le rôle de l'inflammation dans la carcinogenèse, une corrélation entre le taux de CRP et le risque de développer un cancer est suggérée par l'association entre CRP et cancer colorectal [2].

Le dosage de la CRP est un indicateur fort et indépendant du risque de développer des maladies cardiovasculaires. L'association entre la CRP et les maladies cardiovasculaires a été rapportée pour la première fois par Ridker *et al.* qui ont démontré que des hommes en bonne santé présentant une CRP > 2,1 mg/L avaient 3 fois plus de risque de faire un infarctus du myocarde [3]. Il a été proposé que la CRP puisse même être un meilleur prédicteur d'accidents cardiovasculaires que les niveaux de LDL chez les sujets sains [11]. De plus, une CRP > 3,6 mg/L chez un patient souffrant d'angor instable témoigne d'un risque de nouvelle survenue d'accidents coronariens multiplié par deux [5].

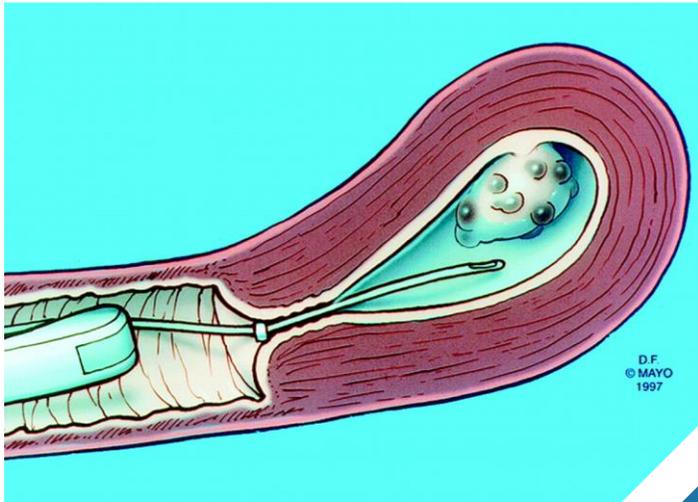
Les statines réduisent de manière significative et indépendante le taux de CRP circulant (35 %), ainsi que le risque de survenue de complications cardiovasculaires 5 ans après le début de la thérapie par les statines [8].

Selon Pearson *et al.*, le risque de développer une maladie cardiovasculaire selon la concentration de CRP chez des sujets sains est : risque faible (< 1 mg/L), risque moyen (1 à 3 mg/L) et risque élevé (> 3 mg/L) [7].



LE CELLULE

L'ANALISI CITOLOGICA DI UN CAMPIONE CLINICO PUO ESSERE RAPPRESENTATO DA UN GRUPPO DI CELLULE ISOLATE E RICHIEDE L'OSSERVAZIONE AL MICROSCOPIO OTTICO DELLE CELLULE PRELEVATE O ESFOLIATE DAI TESSUTI O DAGLI ORGANI DEL NOSTRO ORGANISMO. TALI CELLULE VENGONO FISSATE E SUCCESSIVAMENTE COLORATE TRAMITE COLORANTI SPECIFICI IN LABORATORIO E QUESTA OPERAZIONE VIENE ESEGUITA ATTRAVERSO UN VETRINO DA MICROSCOPIO TRAMITE L'AUSILIO DI UN BLANDO AGENTE FISSATIVO (ETANOLO).



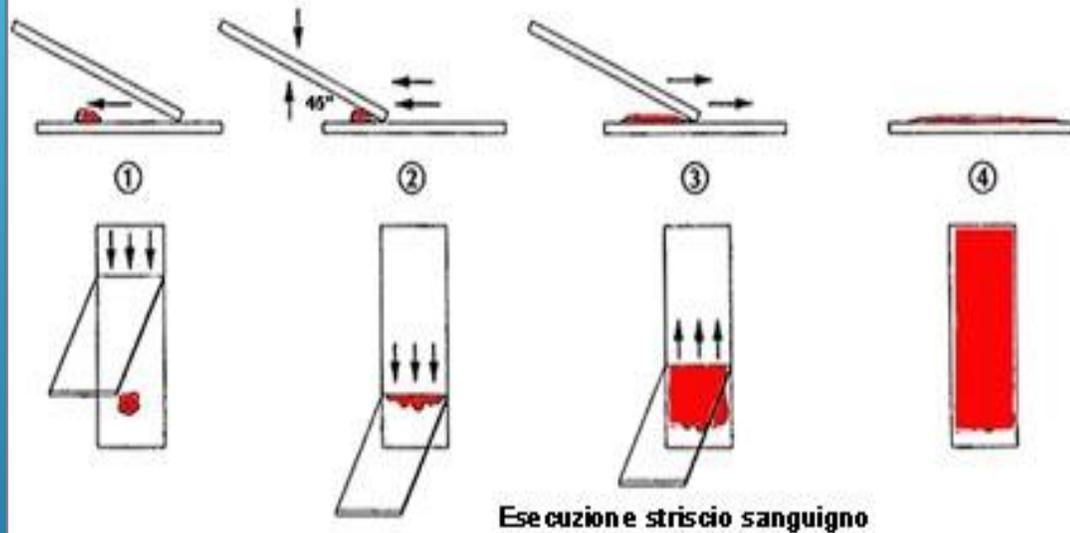
METODO DI PRELIEVO

Il prelievo delle cellule può essere effettuato in quattro modi:

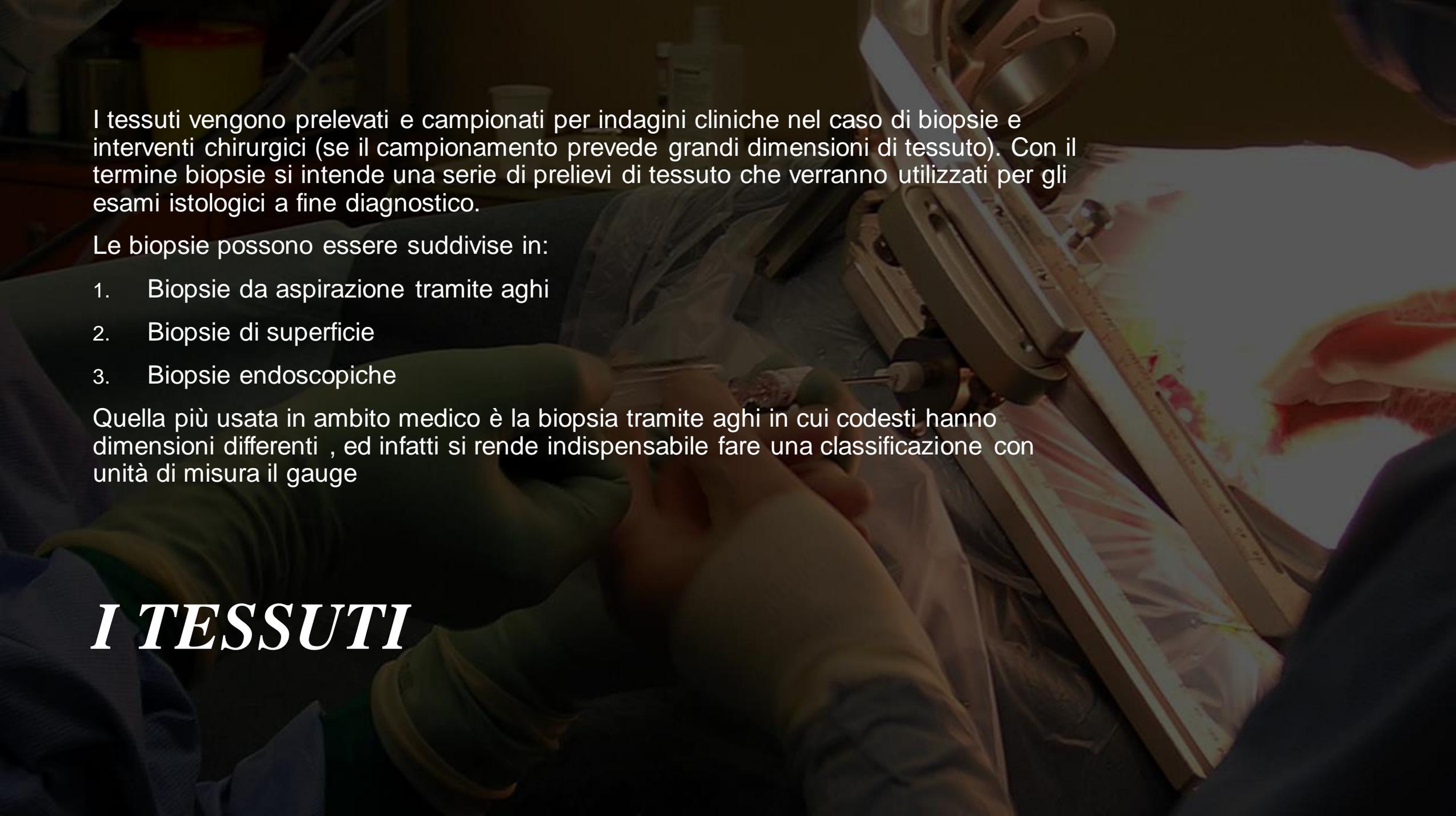
- ▶ Naturale esfoliazione spontanea(espettorato)
- ▶ Esfoliazione indotta tramite pressione
- ▶ Raschiamento
- ▶ Aspirazione (Agoaspirato)

Questo prelievo per l'esame citologico non è invasivo e permette la prevenzione e la diagnosi precoce di gravi patologie, soprattutto quelle tumorali.

PRELIEVO CITOLOGICO: STRISCIO SU VETRINO



Il prelievo citologico dello striscio su vetrino viene eseguito direttamente sul vetrino stesso da microscopia con un campione di sangue fresco e subito dopo averlo depositato. Nella procedura la goccia di sangue si posiziona sul lato del vetrino e si avvicina un vetrino molato (che presenta bordi per non danneggiare le cellule) alla goccia con un angolo tra i due vetrini di 30-40°. Successivamente il sangue si diffonde per capillarità e si striscia il vetrino molato in direzione opposta alla goccia.



I tessuti vengono prelevati e campionati per indagini cliniche nel caso di biopsie e interventi chirurgici (se il campionamento prevede grandi dimensioni di tessuto). Con il termine biopsie si intende una serie di prelievi di tessuto che verranno utilizzati per gli esami istologici a fine diagnostico.

Le biopsie possono essere suddivise in:

1. Biopsie da aspirazione tramite aghi
2. Biopsie di superficie
3. Biopsie endoscopiche

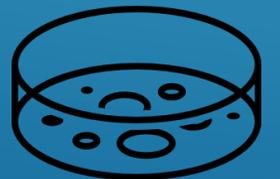
Quella più usata in ambito medico è la biopsia tramite aghi in cui codesti hanno dimensioni differenti , ed infatti si rende indispensabile fare una classificazione con unità di misura il gauge

I TESSUTI

DIMENSIONE AGHI DA BIOPSIA IN GAUGE



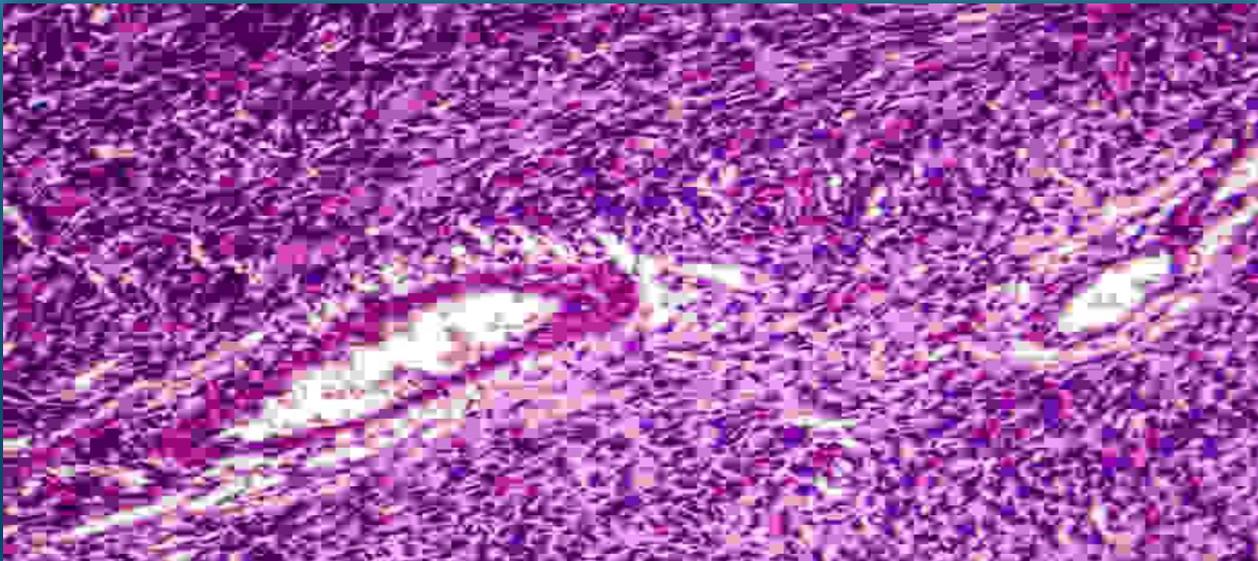
| Diametro esterno in mm Outer diameter in mm | Gauge(*) |
|--|-----------------|
| 0.30 | 30 |
| 0.33 | 29 |
| 0.36 | 28 |
| 0.40 | 27 |
| 0.45 | 26 |
| 0.50 | 25 |
| 0.55 | 24 |
| 0.60 | 23 |
| 0.70 | 22 |
| 0.80 | 21 |
| 0.90 | 20 |
| 1.10 | 19 |
| 1.20 | 18 |
| 1,50 | 17 |
| 1.60 | 16 |
| 1.80 | 15 |
| 2.10 | 14 |
| 2.40 | 13 |
| 2.70 | 12 |
| 3.00 | 11 |
| 3.30 | 10 |
| 3.50 | 9 |
| 4.20 | 8 |



LE BIOPSIE

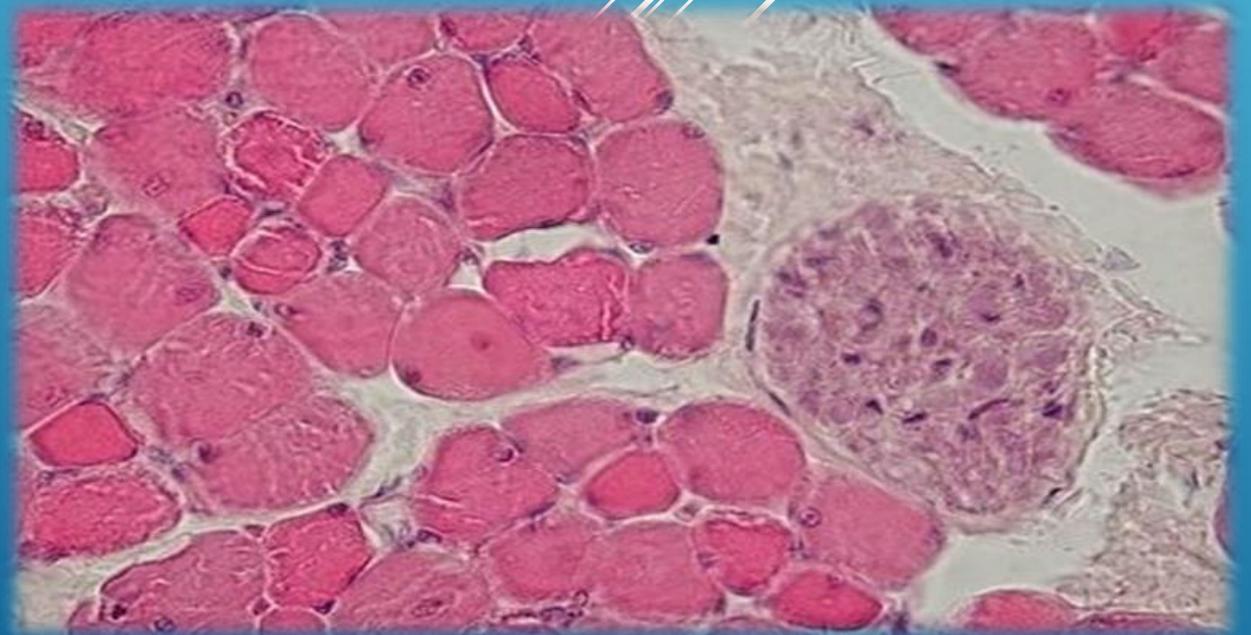
La biopsia viene eseguita al fine di escludere o confermare un sospetto di malattia e quindi arrivare a una diagnosi istopatologica e definirne le caratteristiche. Può essere effettuata sia in tessuti duri come il tessuto osseo oppure in tessuti molli, come cute e mucosa.

La biopsia effettuata sui tessuti molli può essere incisionale, dove si asportano uno o più frammenti della lesione esaminata, oppure escissionale nella quale avviene l'esportazione della lesione.



FISSAZIONE

Il processo di fissazione permette di immobilizzare i costituenti cellulari e tissutali, oltre ad impedire la degradazione del campione e donargli la resistenza agli stress chimici e fisici presenti nelle successive fasi di analisi clinica. La fissazione può essere di tipo chimico o di tipo fisico.



FASI DI ANALISI CHIMICA

Fissazione chimica: processo nel quale il campione viene trattato con soluzioni fissative isotoniche a pH 7.4 per 12-24 ore. Tra gli agenti fissativi per la fissazione troviamo: Alcoli, aldeidi, ossidanti, organici e metalli.

Successivamente si procede alla disidratazione in soluzioni di etanolo al fine di ottenere la diafanizzazione. A questo punto il campione viene incluso in un mezzo solido per facilitare il sezionamento. Uno dei materiali usati è la paraffina.

Fissazione fisica: in questo processo il campione derivante dalla biopsia viene fissato ed incluso in un mezzo crioprotettivo. Il processo di congelamento viene effettuato tramite ghiaccio secco, azoto liquido o miscele di etanolo.

Fissazione

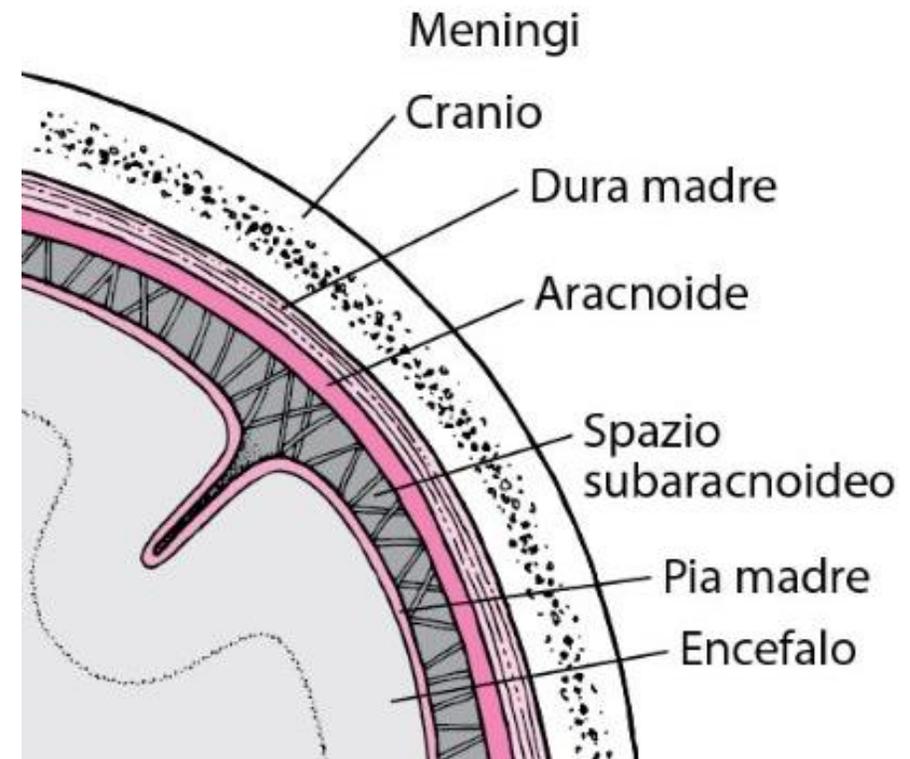
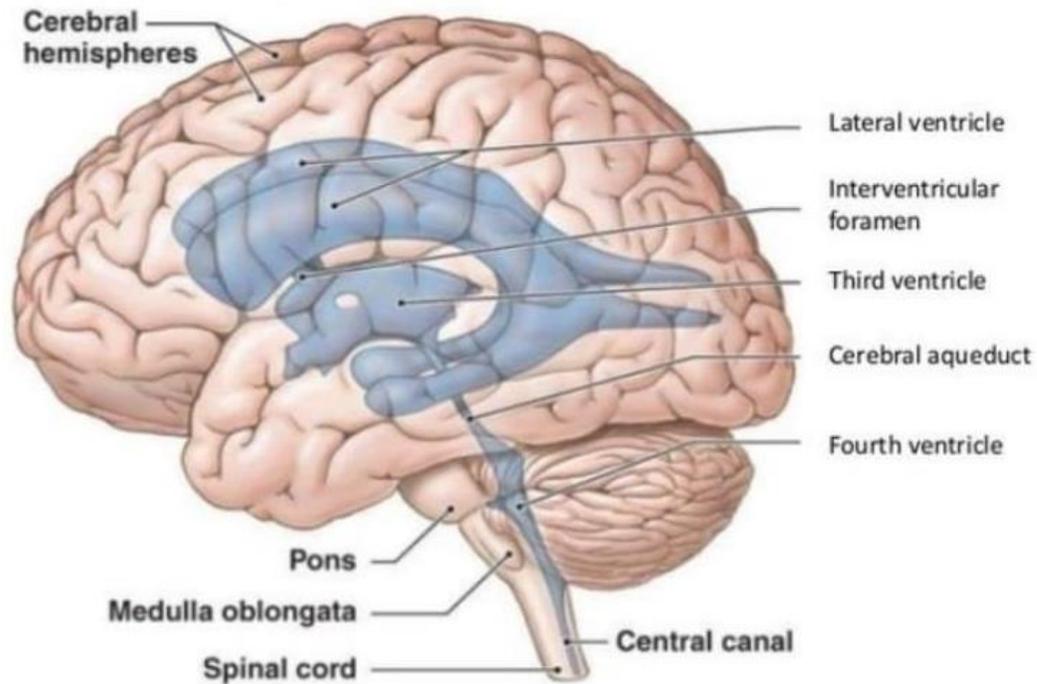
Chimica

Fisica

***FLUIDO
CEREBROSPINALE***



Dov'è situato?



Funzioni:

- Protezione del SNC
- Riduzione del Peso dell'Encefalo
- Trasporto di Sostanze

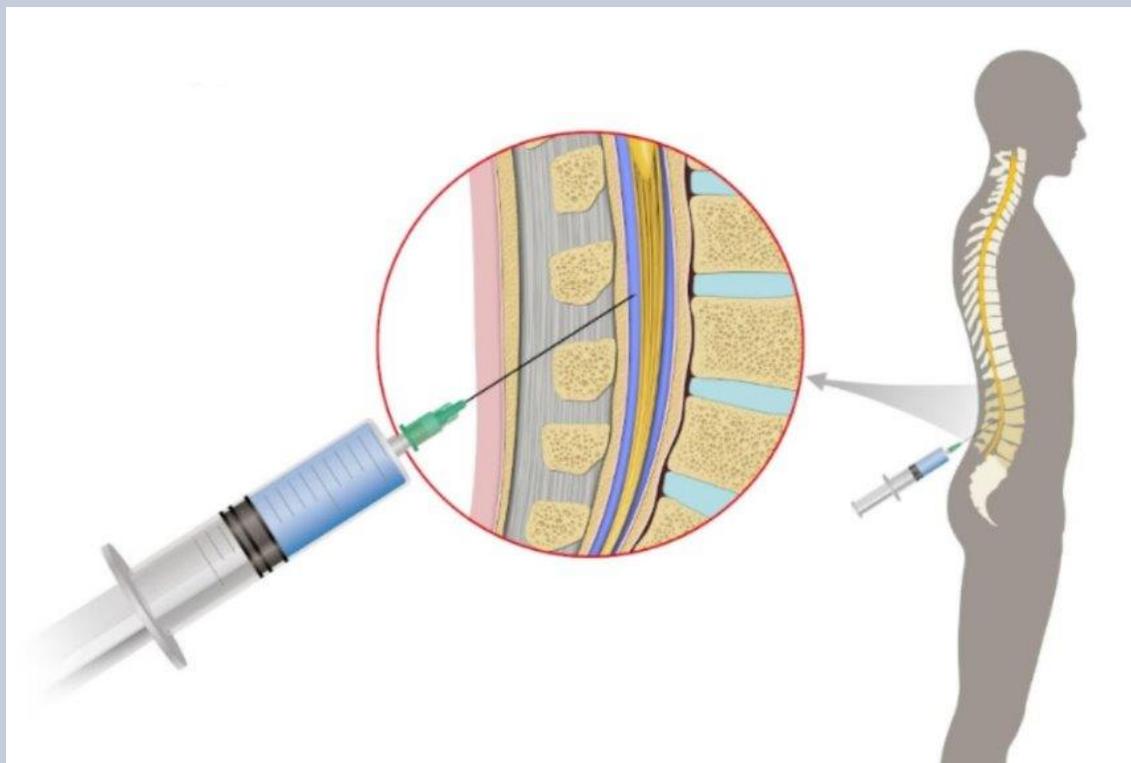
Composizione generale

TABELLA 4.15 *Composizione media del fluido cerebrospinale*

| | <i>Percentuale</i> | <i>Componenti</i> | |
|------------------|--------------------|--|------|
| Acqua | 99.1% | | |
| Altri componenti | 0.9% | Elettroliti (sodio, potassio, magnesio, calcio, cloruro, bicarbonato, fosfato) | |
| | | Acidi nucleici | |
| | | Proteine | 0.3% |
| | | Nutrienti e prodotti di scarto (glucosio, glutammina, lattato) | |

RACHICENTESI o PUNTURA LOMBARE

Procedura Invasiva che consiste nell'inserire un Ago sottile nello Spazio Subaracnoideo



Possibili Complicanze:

- Cefalea
- Dolore Lombare
- Infezioni
- Lesioni Nervose
- Emorragie

Scopo dell'Analisi

Fornisce informazioni sullo Stato Fisiologico e su diverse Patologie a carico del SNC:

- Tumori
- Alterazioni a Carico della Barriera Emato-Encefalica
- Infezioni
- Patologie Degenerative della Guaina Mielinica

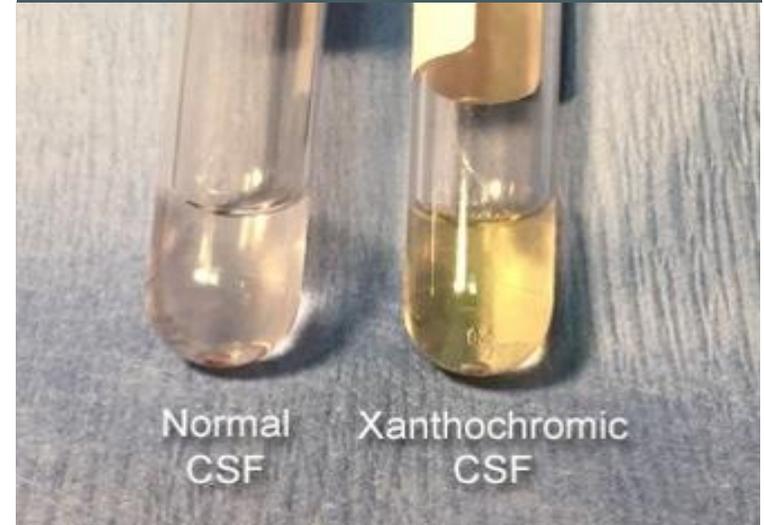


Condizioni Fisiologiche



Fluido Alterato

Xantocromia



Color of CSF supernatant

Conditions or causes

| | |
|--------|--|
| Yellow | Blood breakdown products Hyperbilirubinemia CSF protein ≥ 150 mg per dL (1.5 g per L) $> 100,000$ red blood cells per mm^3 |
| Orange | Blood breakdown products High carotenoid ingestion |
| Pink | Blood breakdown products |
| Green | Hyperbilirubinemia Purulent CSF |
| Brown | Meningeal melanomatosis |

CSF = cerebrospinal fluid.

Information from references 2,4, and 5.

Altre Variabili soggette ad Analisi

- Proteoma
- Livelli di Glucosio
- Elementi Cellulari
- Pressione del Liquor



Assessing the applicability of cerebrospinal fluid collected from the spinal cord for the determination of ethyl alcohol in post-mortem toxicology

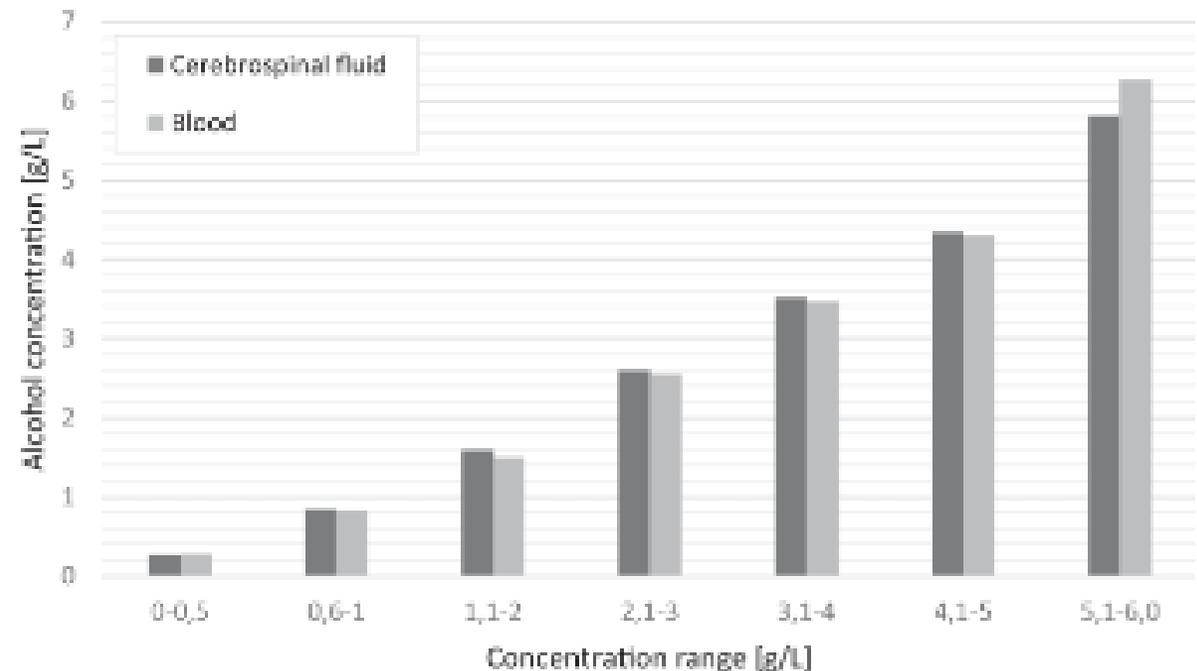
Paulina Wachholz^{1,2} · Rafał Skowronek³ · Natalia Pawlas¹

Studio nel quale si fa un confronto sul contenuto di Etanolo all'interno del Sangue e del Liquido Sinoviale

in soggetti deceduti(Post-Mortem)

Tra i due si è riscontrata una forte correlazione, da ciò il possibile utilizzo del LC come campione biologico alternativo nella Determinazione dell'Etanolo

Durante le autopsie le analisi riguardano principalmente il sangue, ma essendo suscettibile a cambiamenti biochimici post-mortem è comunque necessario l'esame simultaneo di altri fluidi corporei

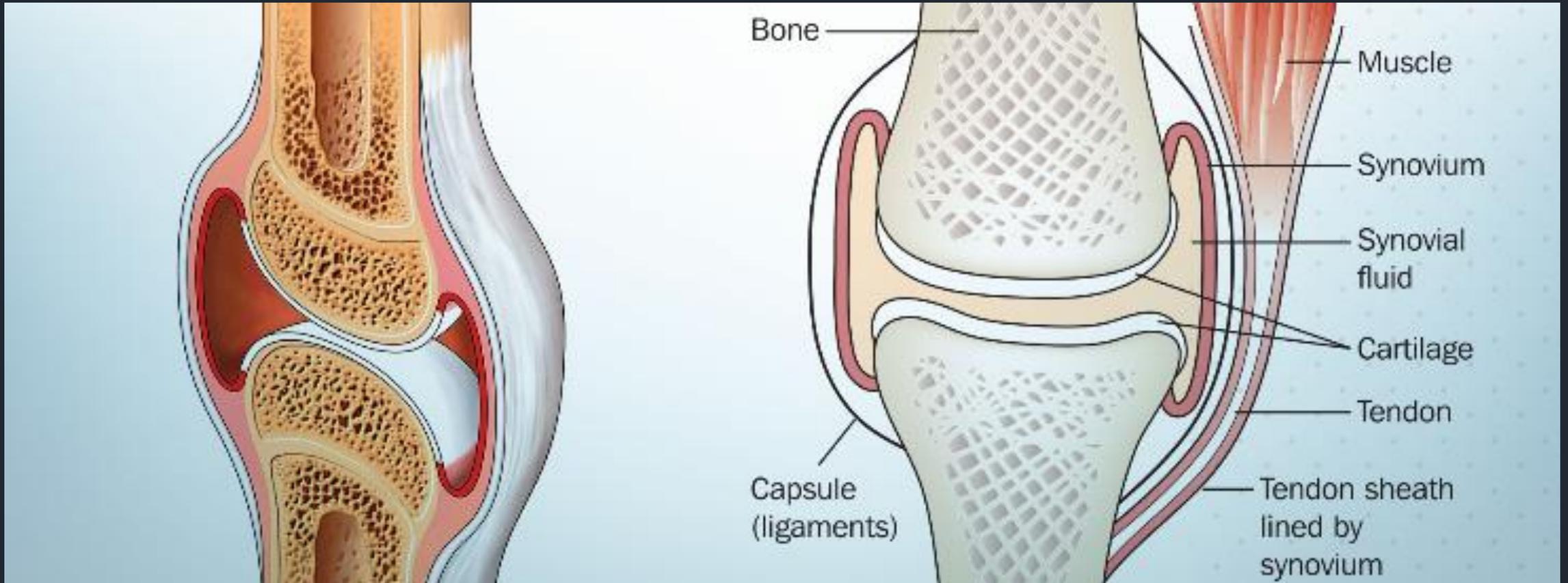




LIQUIDO SINOVIALE



Dov'è situato



FUNZIONI

- Lubrificazione
- Protezione
- Trasporto di Sostanze

COMPOSIZIONE

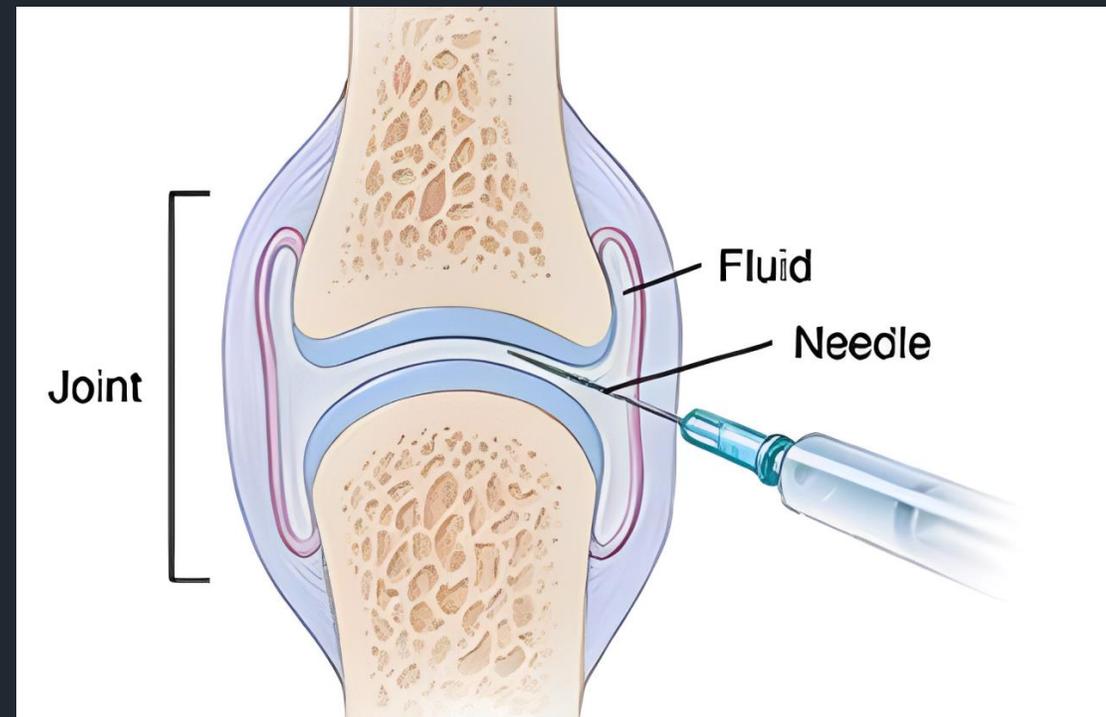


TABELLA 4.11 *Composizione media del liquido sinoviale*

| | Percentuale | Componenti | |
|------------------|-------------|---|------|
| Acqua | 95% | | |
| Altri componenti | 5% | Elettroliti e sostanze a basso peso molecolare | 1-2% |
| | | Proteine (albumina) | 2-3% |
| | | Acido ialuronico e altri composti con funzioni lubrificanti e protettive della cartilagine | |
| | | Leucociti (funzione di eliminazione dei frammenti di cartilagine legati all'usura dell'articolazione) | |

ANTROCENTESI

Metodo invasivo effettuato con Siringa, inserita fino a livello della Capsula Articolare



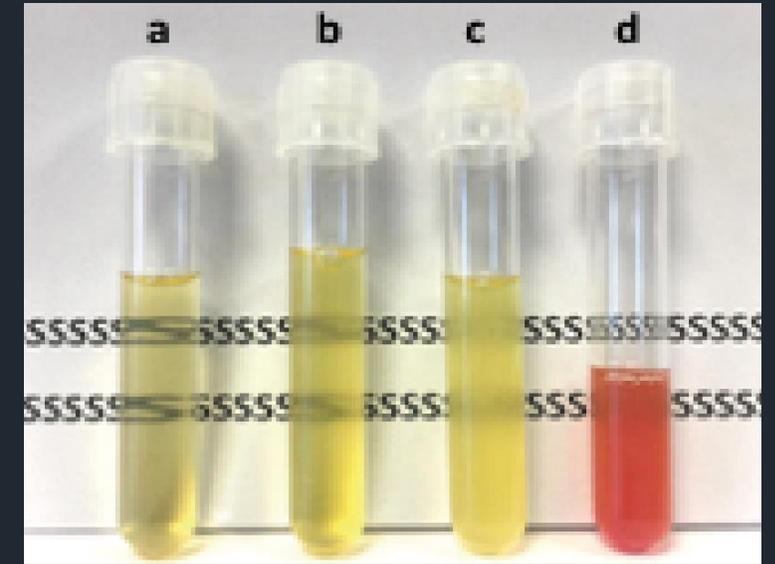
Complicanze:

- Infezioni
- Sanguinamento
- Danni all'Articolazione
- Ematomi

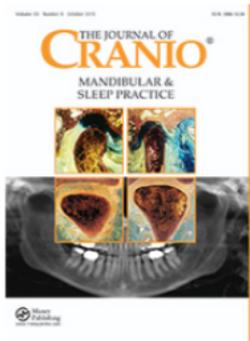
ANALISI

Al suo interno si ricercano:

- Leucociti
- Cristalli
- Cellule dell'Articolazione



| | Normal | Non-inflammatory | Inflammatory | Septic | Hemorrhagic |
|-------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|------------------|-------------|
| Appearance | Transparent Straw-colored | Transparent Straw-colored | Yellow, Cloudy Turbid | Turbid Opaque | Bloody |
| Viscosity | High | High | Low | Low | Variable |
| Mucin clot | Good | Good | Fair | Poor | |
| SF WBC/mm ³ | < 200 | < 2000 | 2000–50,000 | > 50,000 | Variable |
| SF % PMN | < 25 | < 25 | > 50 | > 75 | Variable |
| Glucose (% blood level) | 95–100% | 95–100% | 80–100% | < 50% | |
| Protein | 1.3–1.8 | 3–3.5 | > 4.0 | > 4.0 | |
| Crystals | None | None | Multiple or none | None | None |



CRANIO®

The Journal of Craniomandibular & Sleep Practice

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

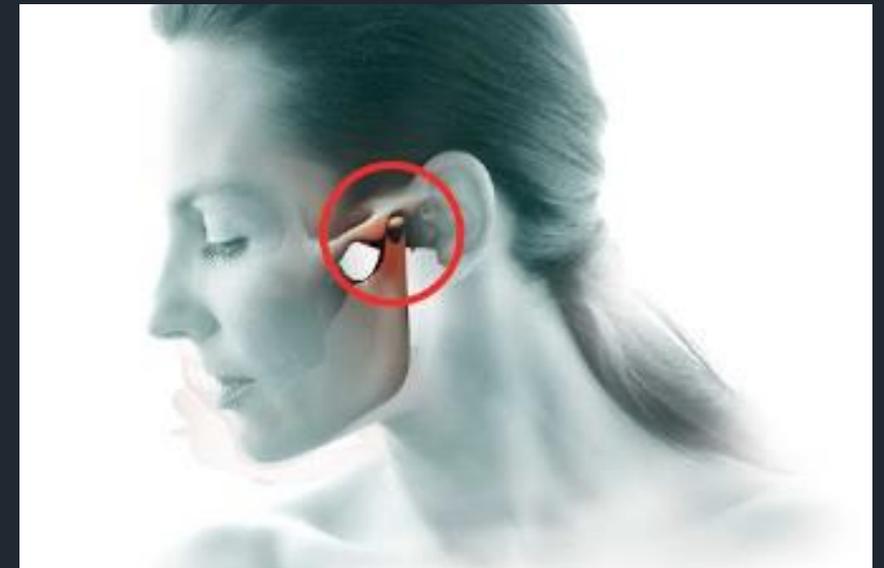
ISSN: 0886-9634 (Print) 2151-0903 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/ycra20>

Analysis of synovial fluid visfatin level in temporomandibular joint disorders

Studio relativo alla presenza di Visfatina nel LS e a come questa può essere correlata ai vari Disturbi Temporo-Mandibolari(TMD)

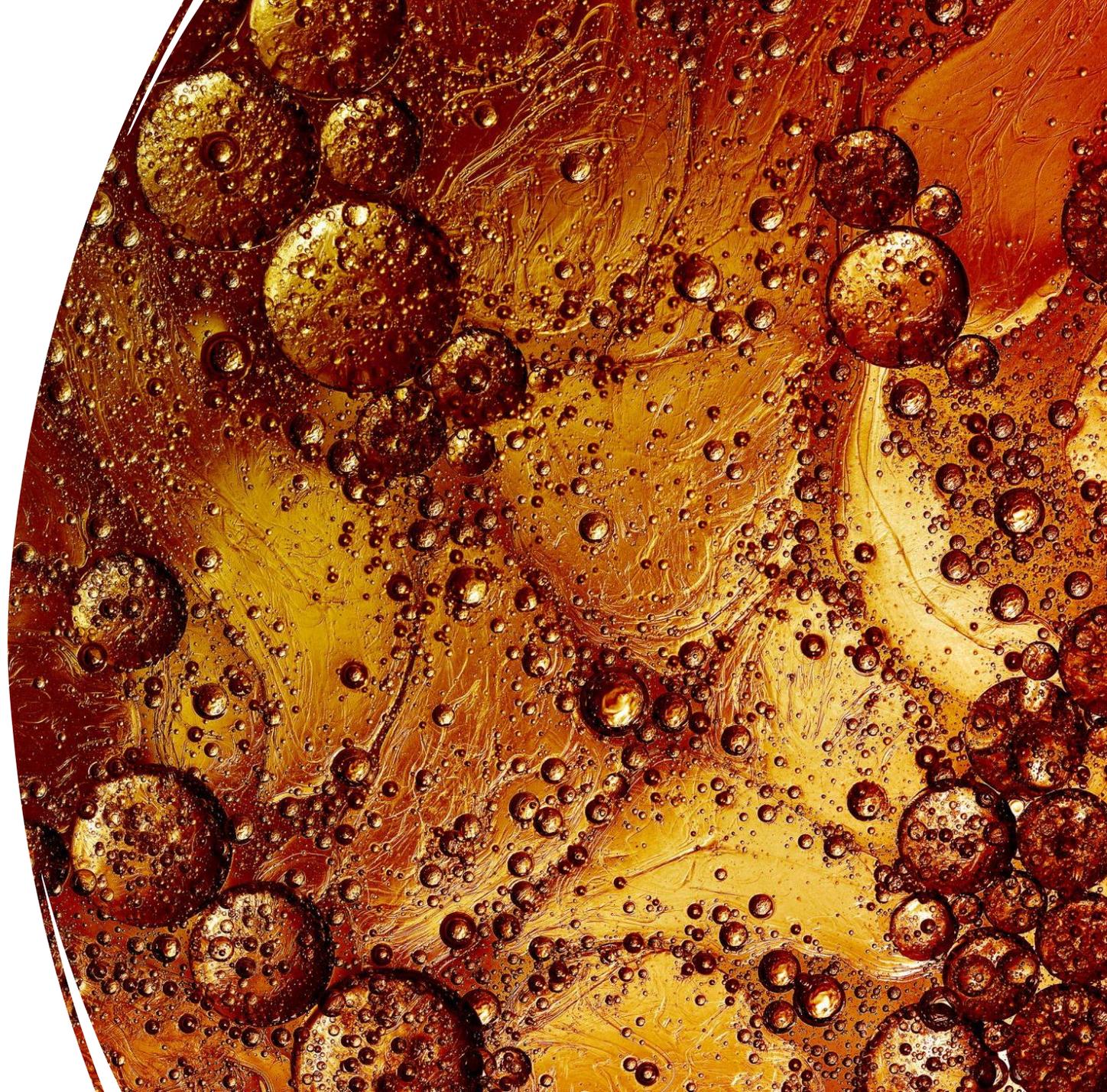
Le analisi hanno mostrato correlazione tra i livelli di Visfatina e la presenza di questi disturbi

Studi successivi hanno dimostrato che essa ha una azione Pro-Infiammatoria, ma i processi cui prende parte non sono ancora noti in maniera chiara; si pensa che abbia un ruolo nella Degradazione della Cartilagine Articolare



<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29385907/>

*Fluido
gastrico*



Caratteristiche generali

SECREZIONE DELLA MUCOSA INTERNA DELLO STOMACO

VALORE DI PH (FORTEMENTE ACIDO 1.5-3)

FUNZIONE DIGESTIVA (PRINCIPALMENTE PROTEINE)

INNOCUO ALLE PARETI DELLO STOMACO (PRESENZA DI LIPOPROTEINE)

Composizione media

| | Percentuale | Componenti | |
|------------------|-------------|--|----------|
| Acqua | 99% | | |
| Altri componenti | 1% | Acido cloridrico | 0,4-0,5% |
| | | Elettroliti (Na, K, Ca, Mg, HCO ₃ ⁻ , Cl ⁻ , PO ₄ ³⁻ , NaHCO ₃) | 0,15% |
| | | Mucina | |
| | | Composti per il processo digestivo (pepsina, gelatinasi, lipasi gastrica) | 0,4% |

Diagnosi

- Le analisi sono effettuate per la diagnosi di patologie specifiche, quali:
- Ipercloridria (sindrome Zollinger – Ellison; eccesso di acido cloridrico)
- Ipocloridria (sindrome di Ménétrier, anemia perniziosa, gastrite atrofica; insufficienza di acido cloridrico)
- Ulcere/neoplasie



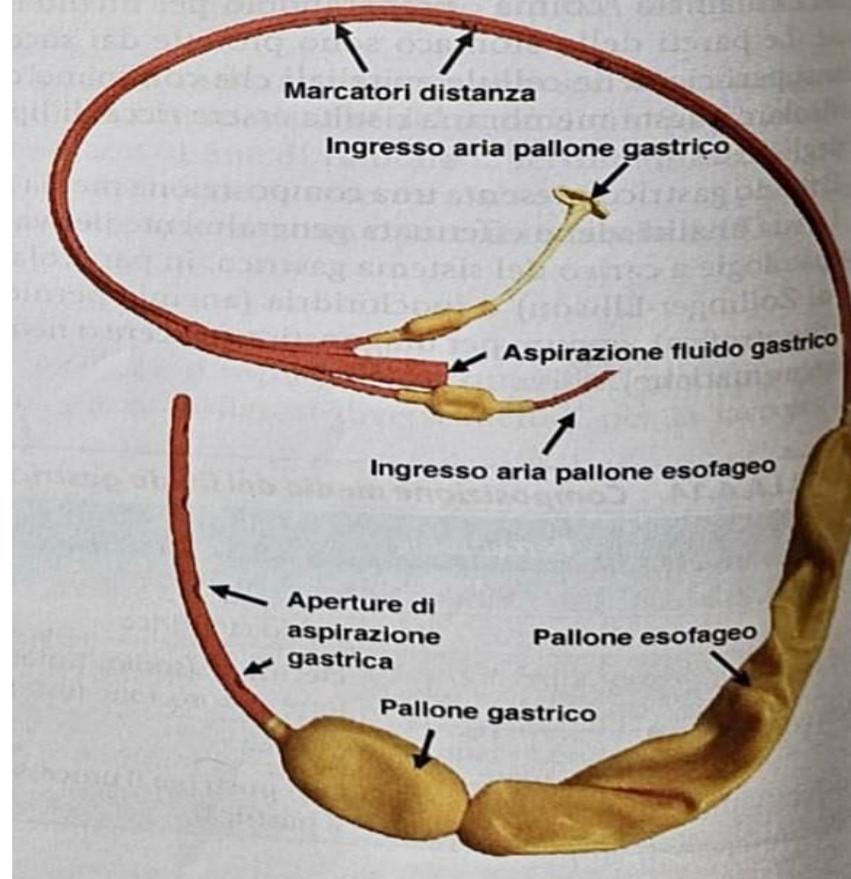
Metodo di prelievo

Digiuno preventivo di 12 h
prima della procedura

Utilizzo di sonda gastrica
in condizioni basali

Analisi seguita in diretta
mediante fluoroscopia

Congelamento dei
campioni prelevati per
successive analisi



Ultrasonic Examination of the Wall of the Fluid-Filled Stomach

Hans Worlicek, MD, Dorothee Dunz, MD, and Karl Engelhard, MD

Nello studio in questione è stato rivelato che tramite l'utilizzo di cinque posizioni standardizzate è possibile la visualizzazione transaddominale della parete gastrica in tutte le sezioni dell'organo.

Da qui sono state evidenziate lesioni circoscritte occupanti spazio, come: carcinomi localizzati, linfomi, polipi, pieghe giganti e impronte della parete gastrica.

La procedura si propone non solo come integrazione all'endoscopia e alle radiografie diagnostiche, ma anche come alternativa diagnostica in pazienti selezionati che non possono essere stressati da questi metodi.

TABLE 1
Examination Positions

| | |
|------|-------------------------|
| I. | Head-down, left-lateral |
| II. | Head-up, left-lateral |
| III. | Head-up, supine |
| IV. | Head-up, right-lateral |
| V. | Standing |

TABLE 2
Ultrasonography of the Fluid-Filled Stomach

| (n = 107) | |
|-------------------|---------------|
| Correct positives | 56/68 (82.4%) |
| Correct negatives | 37/39 (94.9%) |
| False positives | 0/39 — |
| False negatives | 7/68 (10.3%) |
| Unclear | 7/107 (6.5%) |

TABLE 3
Ultrasonic Detection of Gastric Wall Lesions in the Fluid-Filled Stomach

| | N | Correct Positives | Unclear | False Negatives |
|--|-----------|-------------------|----------|-----------------|
| Early cancer | 3 | 2 | | 1 |
| Localized carcinoma | 12 | 8 | 2 | 2 |
| Scirrhous carcinoma | 13 | 12 | 1 | |
| Leiomyosarcoma | 3 | 3 | | |
| Lymphoma | 4 | 3 | 1 | |
| Metastatic infiltration | 2 | 2 | | |
| Polypus | 6 | 4 | | 2 |
| Leiomyoma | 4 | 4 | | |
| Glomous tumor | 1 | 1 | | |
| Ulcer with elevated margin | 6 | 3 | 1 | 2 |
| Penetration of ulcer | 3 | 3 | | |
| Prominent metastasis of liver | 1 | 1 | | |
| Prominent splenic lobe | 2 | 2 | | |
| Giant folds | 5 | 5 | | |
| Submucosal lesion of unclear histology | 3 | 3 | | |
| Total | 68 | 56 | 5 | 7 |



La Bile



Caratteristiche generali

- Liquido biologico secreto dal fegato (500 mL/ 1 L al giorno)
- Emulsionante di acidi grassi
- Facilita l'assorbimento di sostanze liposolubili
- Via di eliminazione di bilirubina e altri scarti metabolici
- Battericida di sali biliari



Composizione media

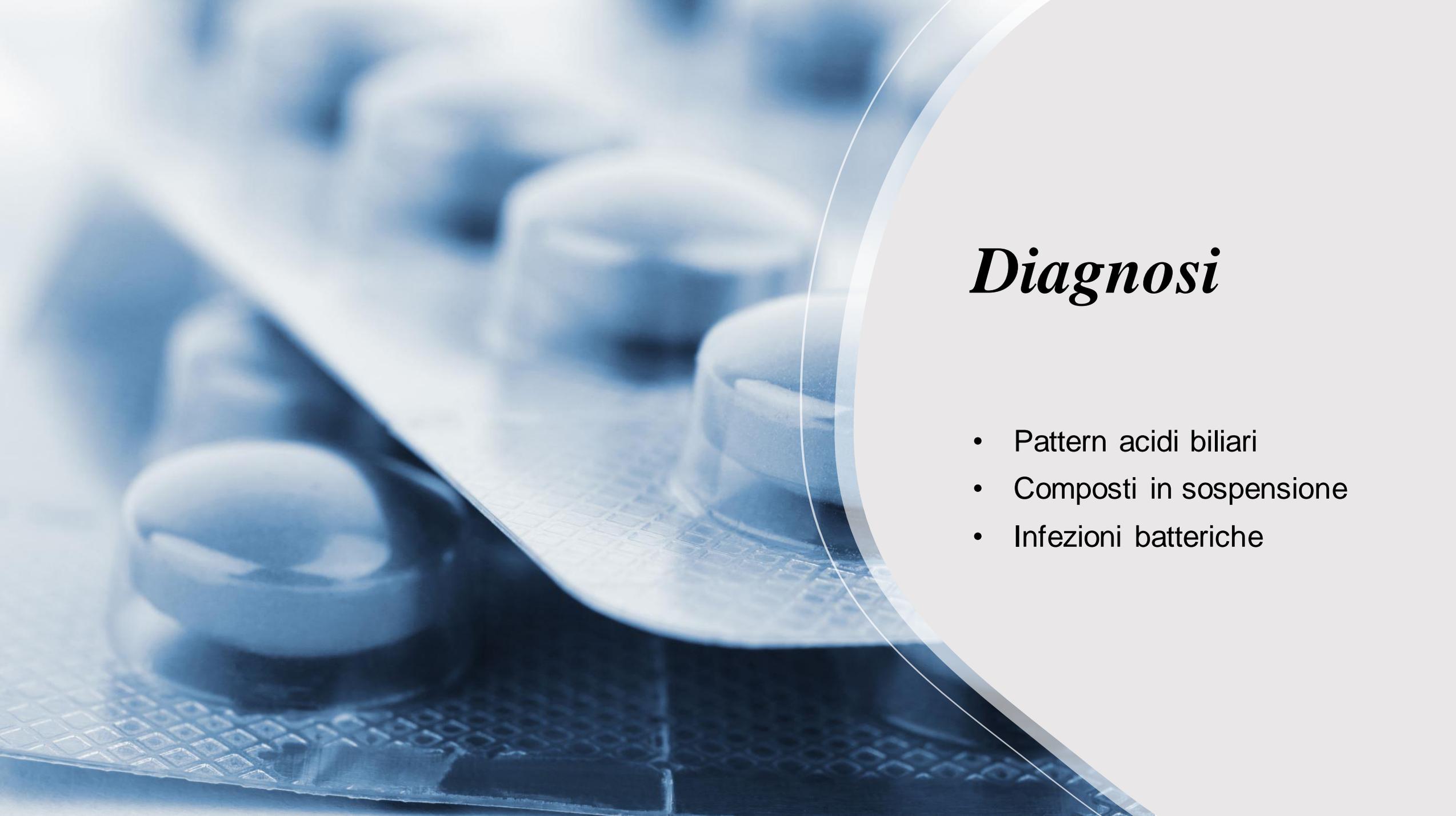
Bile Epatica

- pH (7,8)
- 97% (H₂O)
- 1-2% (sali biliari)
- 0,1% (colesterolo)
- 0,04% (bilirubina)

Bile Colecistica

- pH (7,2)
- 92% (H₂O)
- 6% (sali biliari)
- 0,3-0,9% (colesterolo)
- 0,3% (bilirubina)

| | Percentuale | Componenti |
|---------------------|-------------|--|
| Acqua | 92% | |
| Altri componenti | 8% | <ul style="list-style-type: none">• Sali biliari (6%)• Bilirubina e proteine (0,3%)• Grassi e derivati (1-2,5%)• Elettroliti (0,4%) |



Diagnosi

- Pattern acidi biliari
- Composti in sospensione
- Infezioni batteriche

Metodi di prelievo

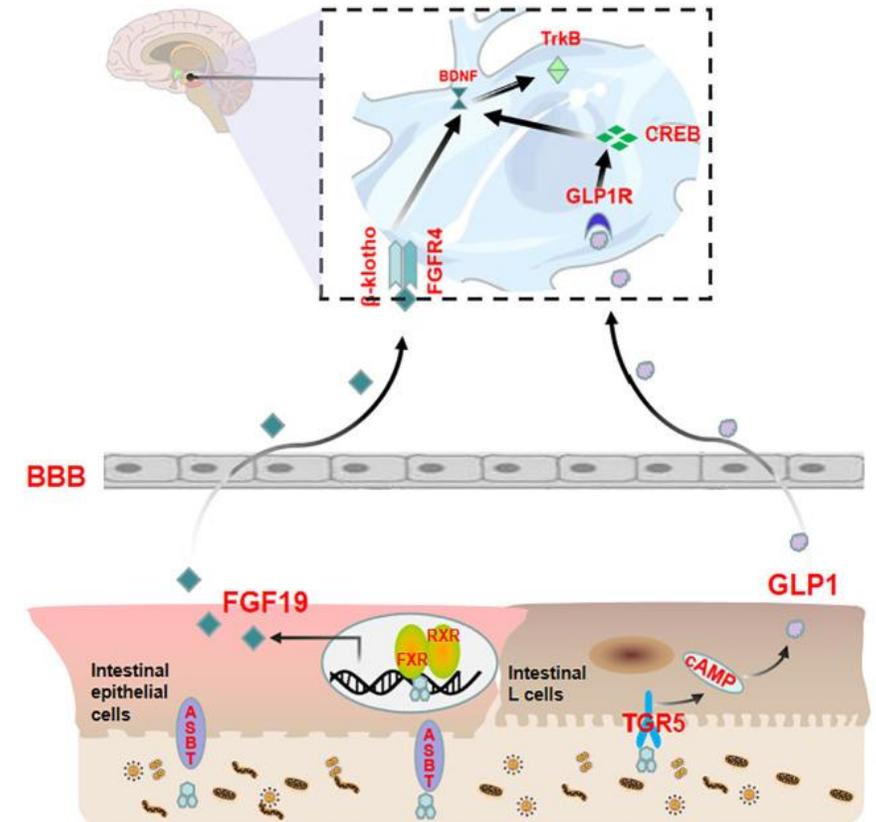
- **Sondaggio duodenale:** effettuato tramite sonda Einhorn, prelevamento della bile dal duodeno; rischio di contaminazione da parte di fluido gastrico
- **Puntura colecistica:** un endoscopio viene fatto passare attraverso la bocca fino alla parte superiore dell'intestino tenue, dove si trova l'ampolla di Vater, iniezione di un mezzo di contrasto per migliorare l'immagine dei dotti biliari e pancreatici mediante raggi X; rischi di contaminazione minori



Il disturbo d'ansia è un disturbo neuropsichiatrico comune che colpisce dal 7,3% al 28,0% della popolazione mondiale. La sua incidenza è aumentata di 2,3 volte negli ultimi anni a causa dell'impatto del COVID-19, rendendola la sesta malattia invalidante più grande a livello globale. Da notare che è associato ad un aumento del rischio di comportamento suicidario e di malattie cardiovascolari.

Gli acidi biliari sono fattori endocrini multifunzionali che governano il metabolismo lipidico ed energetico coordinando l'attivazione di FXR (recettore farnesoide X) e TGR5 (recettore accoppiato alle proteine G) per modulare la segnalazione cellulare. Inoltre, gli acidi biliari comunicano anche con il sistema nervoso centrale, attraversando la barriera emato-encefalica (BBB) per legarsi ai loro recettori affini all'interno del parenchima cerebrale.

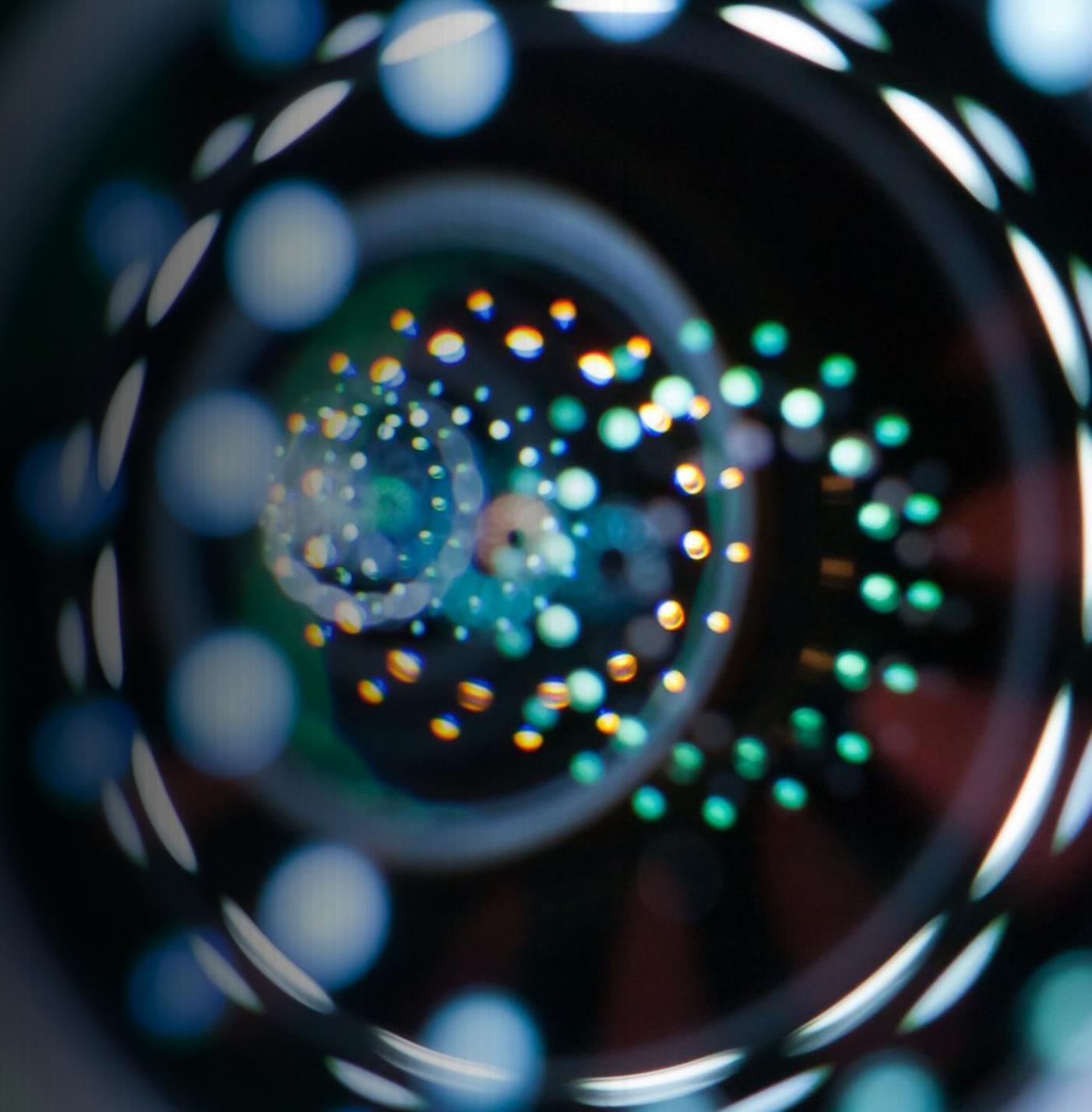
È stato discusso anche il contributo degli acidi biliari all'ansia attraverso l'invio di segnali al cervello attraverso percorsi diretti o indiretti. Diversi ligandi degli acidi biliari innescano distinte cascate di segnalazione, producendo diversi effetti a valle e questi percorsi possono essere coinvolti nella regolazione dell'ansia.



Gli acidi biliari modulano l'ansia trasmettendo indirettamente segnali al cervello attraverso le vie FXR-FGF19 e TGR5-GLP-1 quando entrano nell'intestino. Gli acidi biliari entrano nell'intestino e attivano FXR negli enterociti ileali per sovraregolare l'espressione di FGF19. Oltre a ritornare al fegato attraverso la vena porta, una porzione di FGF19 attraversa la BBB per interagire con gli FGFR nel cervello e influenzare la via di segnalazione BDNF-TrkB. Gli acidi biliari possono anche stimolare le cellule L intestinali a rilasciare GLP-1. Una parte di GLP-1 raggiunge la vena porta e una quantità minore raggiunge il cervello per interagire con GLP-1R, influenzando così la via di segnalazione CREB/BDNF.



Umor Vitreo



Caratteristiche

- Componente del sistema diottrico dell'occhio, formato da elementi trasparenti tali da permettere l'ingresso, la rifrazione e la messa a fuoco dei raggi luminosi
- Situato nella *camera vitrea* (tra cristallino e retina) a contatto con: capsula posteriore del cristallino, fibre zonulari di Zinn, corpo ciliare
- Presenta un rivestimento detto *ialoide*
- Volume in aumento graduale con l'età (4 anni = 20%, 80-90 = >50%)
- Peso di circa 4g e volume di circa 4mL

| COMPOSIZIONE MEDIA DELL'UMOR VITREO | Percentuale | Componenti |
|--|-------------|---|
| Acqua | 98-99% | Elettroliti (sodio, potassio, cloro, lattato, ascorbato), Carboidrati (glucosio) |
| Altri componenti | 1-2% | Fibre di collagene e cellule, Proteine (opticina), Glicosamminoglicani (acido ialuronico) |

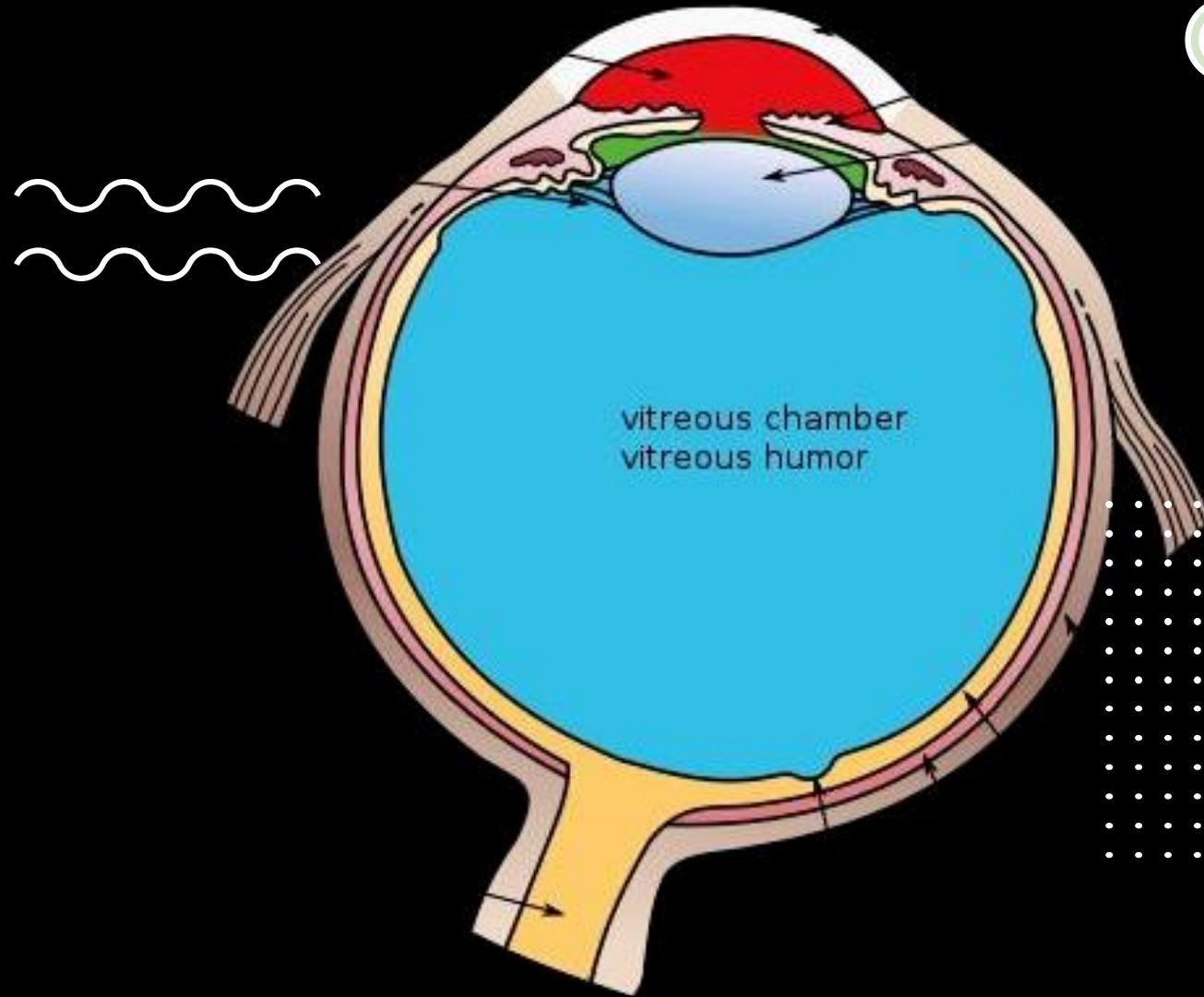
Funzione

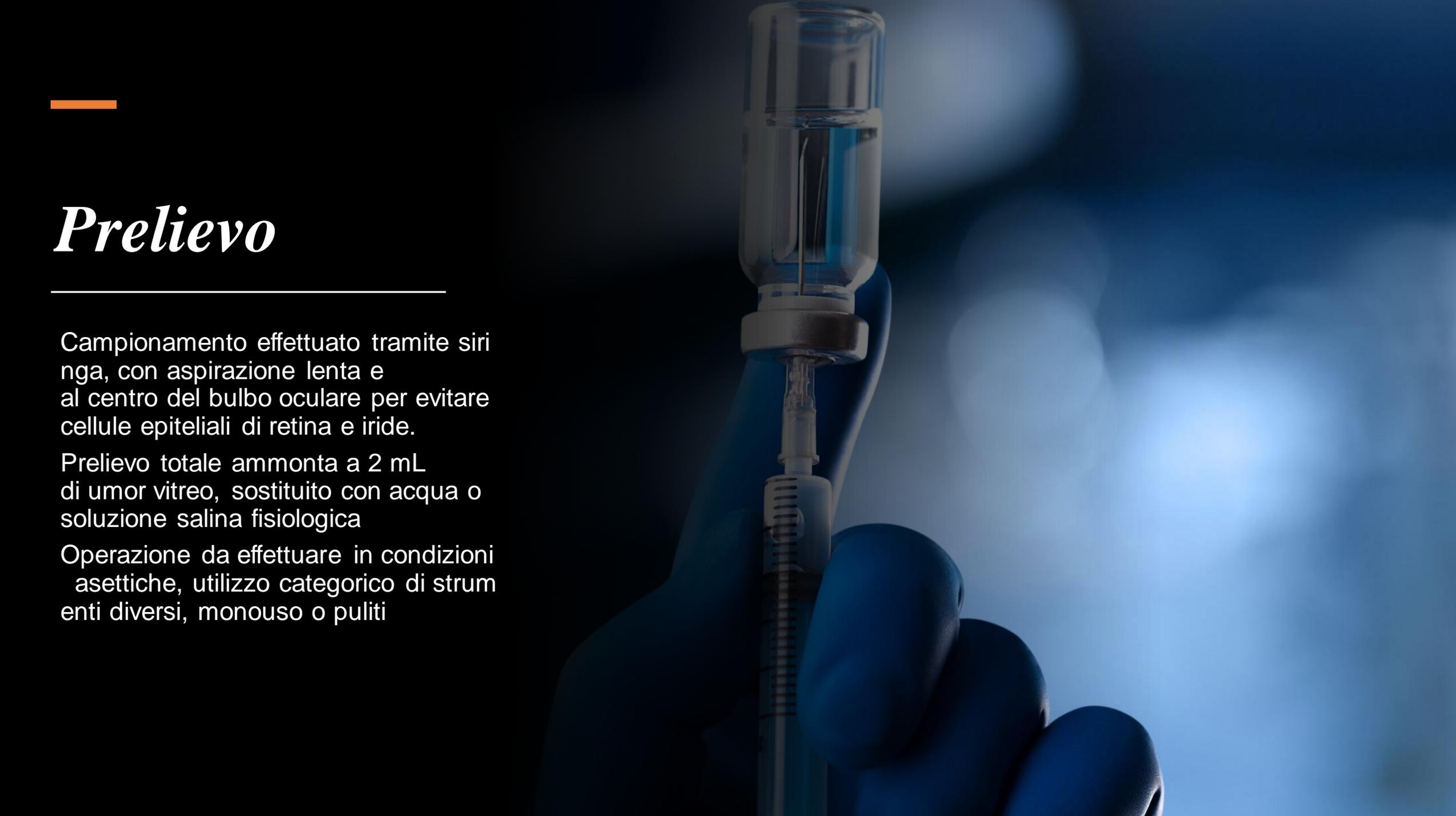
Mantenimento della forma sferica del bulbo oculare

Compressione della retina per garantire la messa a fuoco delle immagini

Diffusione dei nutrienti del corpo ciliare

Protezione da microtraumi esterni (proprietà viscoelastiche)



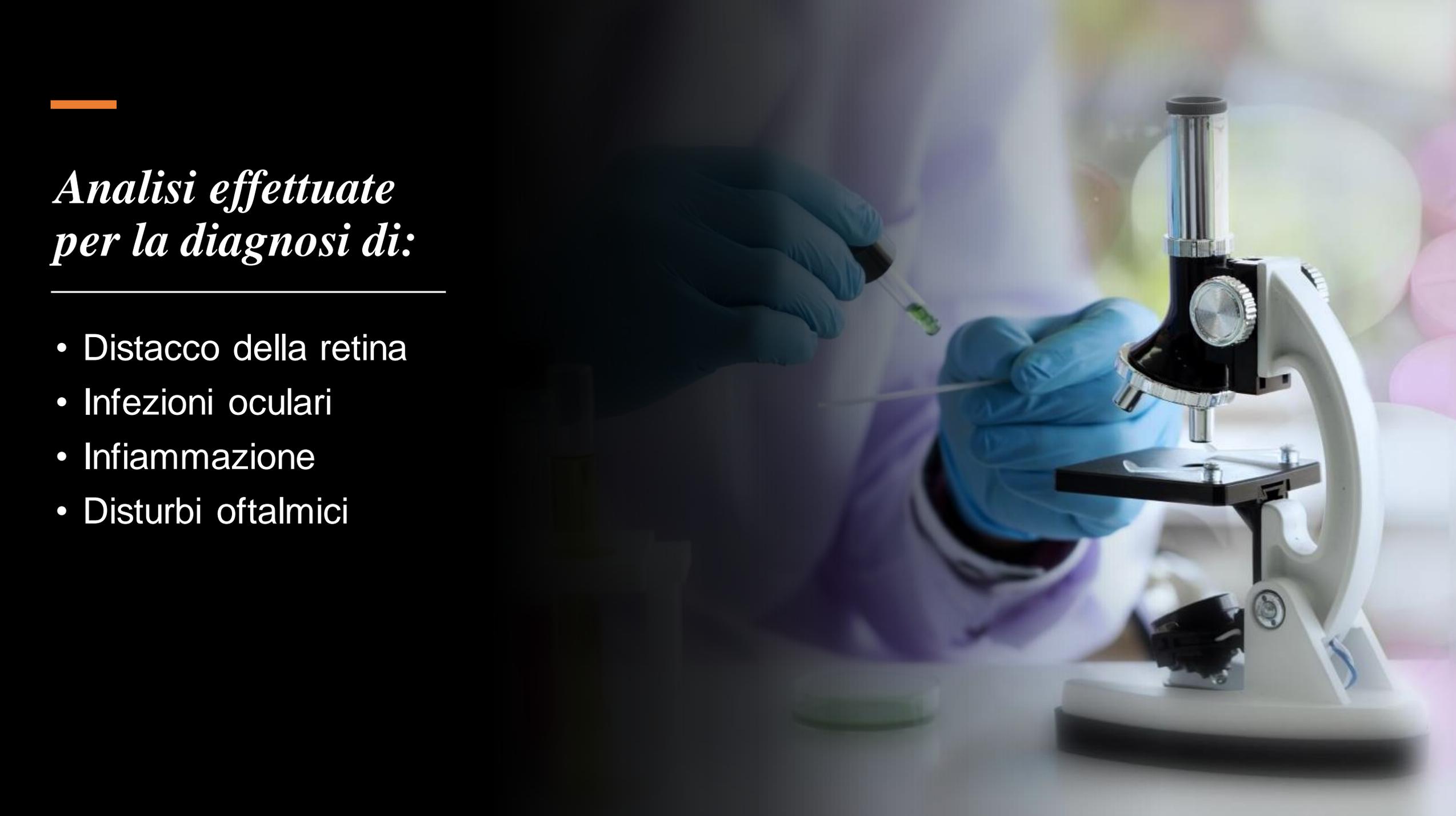


Prelievo

Campionamento effettuato tramite siringa, con aspirazione lenta e al centro del bulbo oculare per evitare cellule epiteliali di retina e iride.

Prelievo totale ammonta a 2 mL di umor vitreo, sostituito con acqua o soluzione salina fisiologica

Operazione da effettuare in condizioni asettiche, utilizzo categorico di strumenti diversi, monouso o puliti



*Analisi effettuate
per la diagnosi di:*

- Distacco della retina
- Infezioni oculari
- Infiammazione
- Disturbi oftalmici

Biomarkers of traumatic brain injury in vitreous humor: A pilot study *Luisa Lanzilao, et*

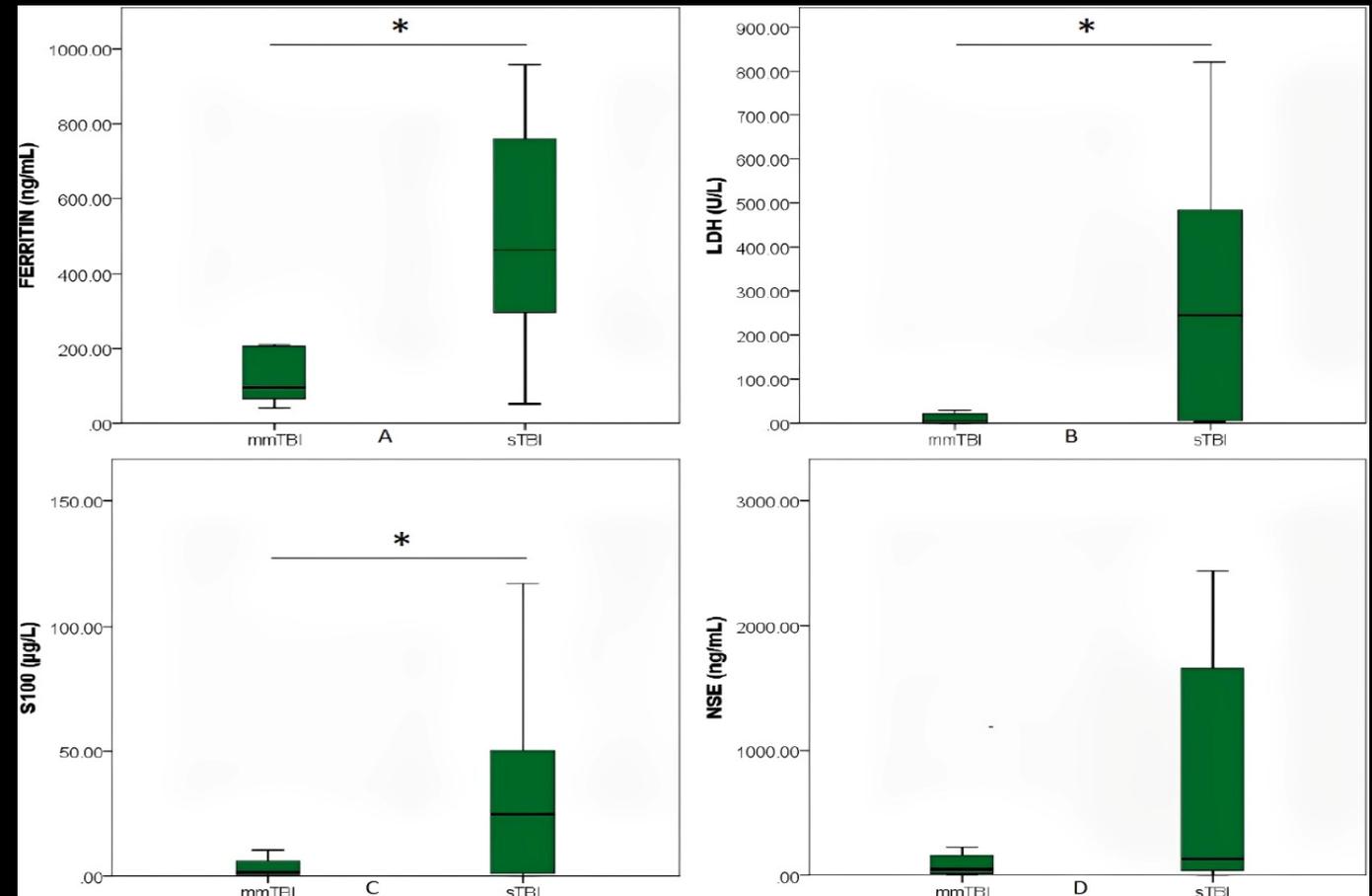
Il trauma cranico è una delle principali cause di morte e disabilità, che potenzialmente porta a deterioramento neurologico e disturbi psichiatrici (disturbi da stress post-traumatico)

Il presente studio mirava a valutare, in campioni post mortem di umor vitreo, i livelli di alcuni biomarcatori specifici del danno cerebrale: enolasi neurone-specifica (NSE), proteina legante il calcio S100 (S100), proteina acida fibrillare gliale (GFAP), Fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF), Copeptina, Interleuchina 6 (IL-6), Ferritina, Lattato deidrogenasi (LDH), Proteina C-reattiva, Procalcitonina (PCT), Glucosio e [lipocalina](#) associata alla gelatinasi neutrofila (N-Gal).

Sono stati presi in considerazione i cadaveri dei pazienti deceduti per/con trauma cranico. Coloro che sono morti di trauma cranico sono stati classificati come casi sTBI (TBI grave) mentre quelli con trauma cranico da lieve a moderato che non sono morti di trauma cranico sono stati classificati come casi mmTBI.

Campioni di umore vitreo (VH) sono stati ottenuti da entrambi gli occhi utilizzando un ago ipodermico sterilizzato di calibro 20 vicino al centro del bulbo oculare. I campioni sono stati conservati a -80 °C.

I risultati hanno mostrato che questi biomarcatori possono aiutare a differenziare i deceduti per trauma cranico da quelli semplicemente morti per trauma cranico (da lieve a moderato), se la morte è avvenuta poche (6) ore dopo il trauma.



Sono stati selezionati per lo studio un totale di 30 cadaveri: 23 erano maschi e 7 femmine, con età compresa tra 25 e 64 anni (età media: 45,6 anni).

Tra i 30 cadaveri, 20 sono morti di sTBI, mentre 10 sono stati classificati come mmTBI.

Dei biomarcatori infiammatori valutati, solo la ferritina e l'LDH hanno mostrato una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi, con valori più elevati nei casi sTBI.

Tra i marcatori coinvolti nel danno neurologico, solo l'S100 ha mostrato un aumento statisticamente significativo nei pazienti con trauma cranico rispetto al gruppo mmTBI. Infine, l'NSE si è dimostrato molto più elevato nei pazienti traumatici ma non statisticamente significativo ($p = 0,052$)

The image shows a microscopic view of salivary gland tissue, characterized by numerous circular acini cells with dark outlines. The text "La Saliva" is centered in a white, italicized serif font, underlined with a white horizontal line. The entire scene is framed by a white, hand-drawn style border.

La Saliva

Cos'è ?

- Liquido composto da diverse secrezioni, derivanti da 3 coppie di ghiandole salivari situate in diversi punti del cavo orale, che insieme danno la consistenza e composizione a quella definitiva, con un pH di 6,5-6,7 e innumerevoli funzioni.

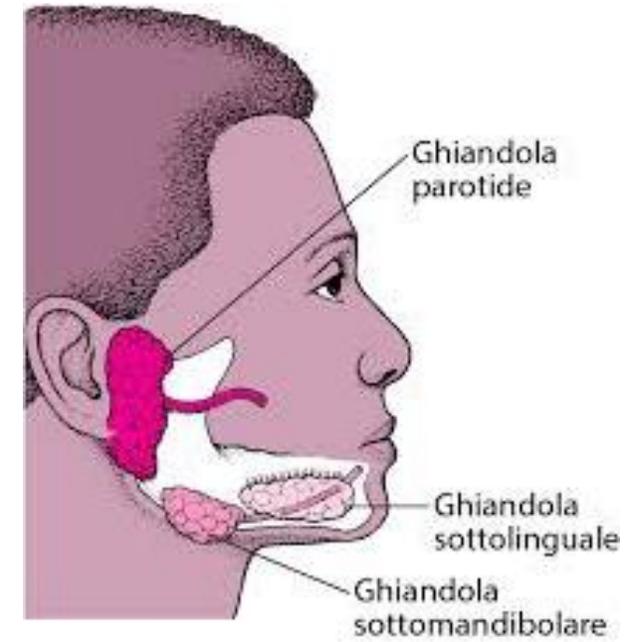


Ghiandole salivari

Parotidi

Sottomandibolare

Sottolinguale



Composizione

TABELLA 4.9 *Composizione della saliva*

| | | Componenti | |
|------------------|--------------------|------------------------------|---|
| | Percentuale | | |
| Acqua | 99.5% | | |
| Altri componenti | 0.5% | Elettroliti | Sodio, potassio, magnesio, calcio, cloruro, bicarbonato, fosfato |
| | | Muco | Mucopolisaccaridi, glicoproteine |
| | | Enzimi | α -amilasi, lisozima, lipasi, lattoperossidasi, lattoferrina |
| | | Immunoglobuline A | — |
| | | Altri composti antibatterici | Perossido di idrogeno, tiocianato |

Funzioni



Parte attiva nella digestione grazie a degli enzimi



Funzione Antibatterica a seguito delle funzioni svolte dell' lisozima



Riparazione dei tessuti del cavo orale e lubrificante



Ruolo fondamentale per il mantenimento della salute delle strutture del cavo orale



percezione dei gusti.

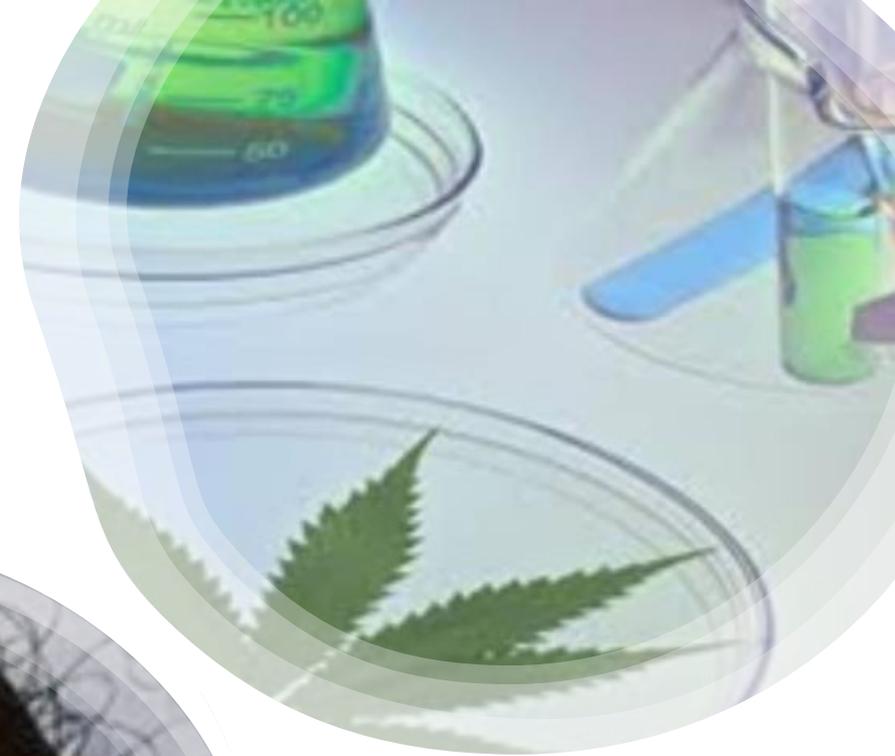
→ *Utilizzi nelle analisi*

Rappresenta un'importante matrice per le indagini diagnostiche per determinare:

- Utilizzo di farmaci ormonali
- livelli di ormoni steroidei > stress
- Uso e livelli di droghe e alcol
- presenza di infezioni batteriche o virali (HIV)

Ricavare dna per

- Test tolleranze alimentari
- malattie genetiche
- test paternità



Prelievi

Ne esistono varie tipologie a seconda della ghiandola. Possiamo ricavare:

- Campione misto
- Campione specifico

Prima di procedere alla raccolta dei campioni salivari sono necessarie alcune attenzioni col fine di minimizzare errori di non attendibilità dei risultati

Prima di effettuare il prelievo:

- Non bisogna bere e mangiare per 2h
- Non bisogna bere alcool per 24h



Dispositivi sviluppati

Vanno in funzione della saliva prelevata e della ghiandola che la produce

Saliva paratiroide

- tubo polietilene
- tazza lashley

Saliva sottomandibolare e sottolinguale

- cannulazione intraorale del condotto ad aspirazione delicata



Saliva intera

Stimolata

Non stimolata

- Gold standard
- dispositivi saliva connection aid
- tamponi materiali assorbenti
- splitting



Saliva in the diagnosis of COVID-19: A Review and New Research Directions

L L Fernandes et al. J Dent Res. 2020 Dec.

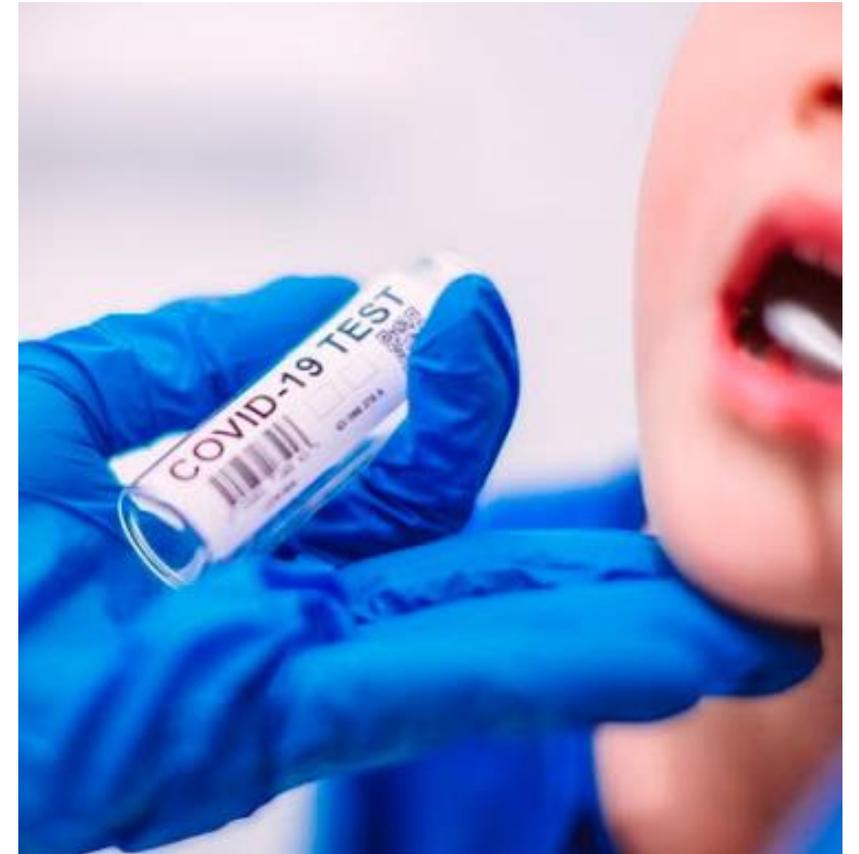
Documento che evidenzia l'utilità della saliva come biofluido nella diagnosi e monitoraggio di COVID-19 .

Gli studi valutano il valore diagnostico dei marcatori biologici presenti nella saliva, 28 studi hanno studiato la presenza di RNA SARS-COV- 2 nella saliva dei pazienti affetti da covid, dunque la saliva ha offerto sensibilità e specificità per il rilevamento paragonabili ai tamponi naso faringei standard.

Per confermarne l'accuratezza però sono necessari studi clinici su popolazioni con pazienti più ampie, che misurino le registrazioni in diverse fasi della malattia.

Tuttavia, l'utilità della saliva come strumento diagnostico apre la possibilità di utilizzare strategie diagnostiche rapide e meno invasive prendendo di mira bioanaliti piuttosto che l'agente patogeno

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32936047/>



Capelli

Filamenti proteici
che crescono dai follicoli
situati nel derma

Funizioni

- Protezione del cranio da traumi e raggi UV
- Trattengono il calore
- Assorbono sostanze nocive



Indicatori inquinament

o



Ma che funzioni hanno nelle analisi?

Fungono insieme alle unghie ed altre formazioni pilifere da matrici cheratiniche

Utilizzi

- Ambito forense e tossicologico



Analisi tossicologica su capelli



| | | |
|---|------------------------|----------------|
|  | Codeina | Carboxy |
| | Morfina | THC |
| | Metaboliti dell'eroina | Anfetamine |
|  | Cocaina | Metanfetamine |
| | Benzoylcegonina | Ecstasy (MDMA) |
| | Norocaina | MDA |
| | Cocaethylene | Fenecilidina |
|  | Marijuana | PCB |
| | Hashish | |

Vantaggi

- Permettono di monitorare un ampio intervallo di tempo
- consentono di capire quando l'organismo è entrato in contatto con la sostanza

Prelievo

- Taglio ciocca capelli da zona nucale
- Prelievo pelo toracico pubblico

Analisi microscopio

➔ **Va considerato:**

Uso di sostanza decoloranti che degradano la matrice cheratinica, alterando la concentrazione dell'analita di interesse.



Hair analysis for the detection of drug use-is there potential for evasion?

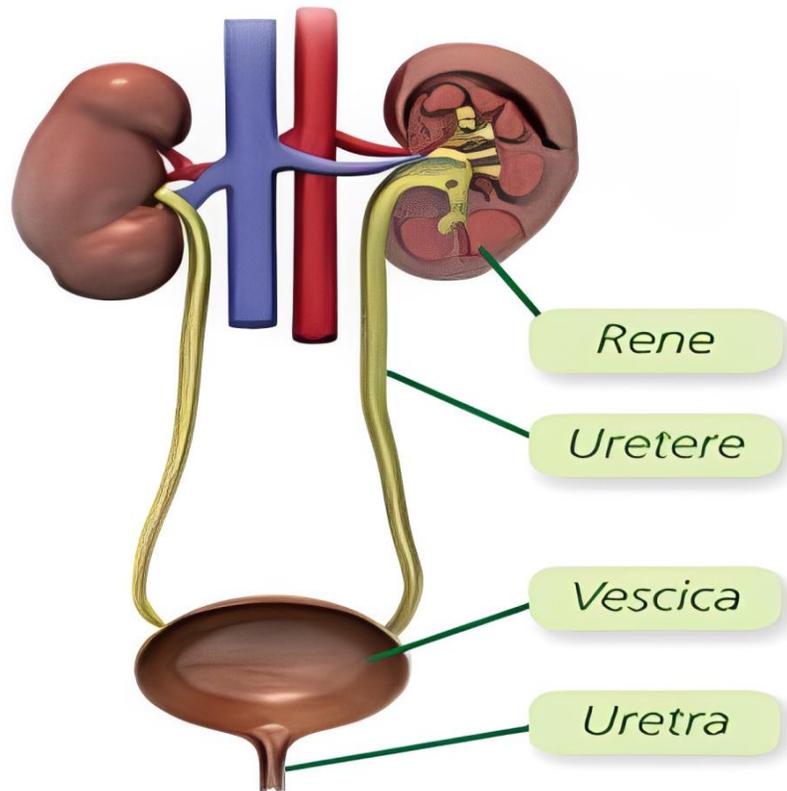


Shanna Marrinan et al. Hum Psychopharmacol. 2017 May.

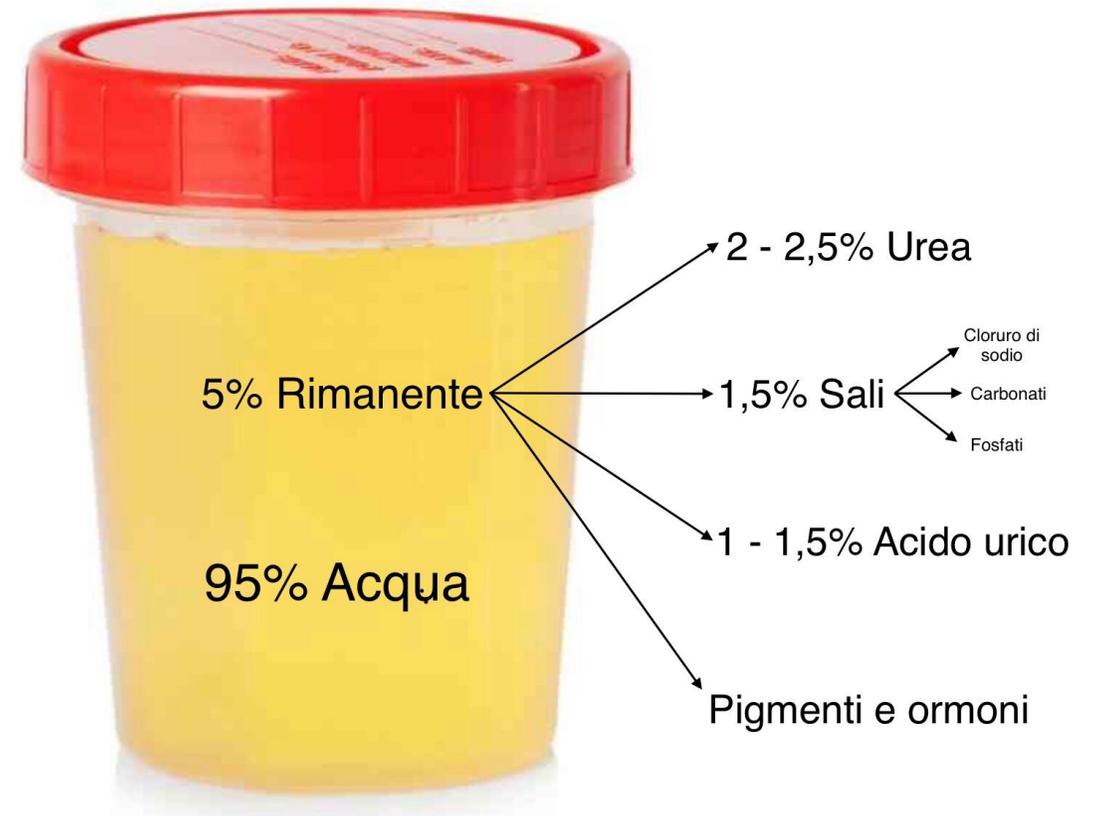
Questo studio mira a indagare sull'adulterazione dei campioni di capelli e a valutare l'efficacia di tali metodi. L'analisi dei capelli per individuare sostanze illecite è ampiamente utilizzata per rilevare il consumo cronico di droghe o l'astensione dalle droghe. I soggetti sottoposti a test sono sempre più alla ricerca di modi per evitare di essere scoperti utilizzando una varietà di prodotti adulteranti non testati (shampoo, detergenti) ampiamente venduti online. I risultati sono stati integrati con una valutazione qualitativa delle fonti online, comprese informazioni orientate all'utente o siti web commerciali, forum sulla droga e "chat room". Oltre quattro milioni di fonti web sono state identificate in una ricerca su Google utilizzando "beat hair drug test" e le prime 86 sono state monitorate regolarmente e prese in considerazione per ulteriori analisi. Risultati: i tentativi di influenzare i risultati dei test sui capelli sono molto diffusi. Sono stati trovati in vendita vari "shampoo" e "detergenti", tra gli altri prodotti, che affermano di rimuovere gli analiti. Tuttavia, questi prodotti possono comportare gravi rischi per la salute e sono anche potenzialmente tossici, consumate anche come tecnica di evasione, poiché queste non sono facilmente rilevabili tramite test antidroga standard. Conclusione: sono necessarie ulteriori ricerche attraverso l'analisi chimica e la sperimentazione dei prodotti adulteranti venduti online e dei loro effetti, nonché lo sviluppo di tecniche di test sui capelli più sofisticate.

LE URINE

Essa fluisce nella pelvi renale, quindi nell'uretere e si raccoglie nella vescica, successivamente l'urina viene emessa dall'uretra.



Attraverso l'urina vengono eliminati dall'organismo i prodotti metabolici e scorie dannose, sotto forma di urea, presenti nel sangue.
E' composta da:



A large orange circle is positioned on the left side of the slide, partially overlapping the white background.

FINALITA'

L'esame delle urine viene usato in ambito clinico per individuare eventuali patologie renali, alterazioni metaboliche, infezioni del tratto urinario, test di gravidanza e in generale patologie sistemiche.

PRELIEVO DELLE URINE

Il campionamento delle urine viene effettuato grazie a dei contenitori sterili e possono essere di due tipi:

RACCOLTA MINIMA:



RACCOLTA SU 24 ORE:



CONSERVAZIONE

Le urine, a seconda dell'analita, devono essere conservate in determinate condizioni:

| Analita | Conservante/stabilizzante | Stabilità massima (Giorni) | Temperatura |
|-----------------|--|----------------------------|-------------|
| Urati | 15 mL NaOH 2 mol/L | 5 | Ambiente |
| Sodio | Mertiolato (150 mg/contenitore) Acido borico (27 g/contenitore) Timolo | 7 | 4°C |
| Potassio | Mertiolato (150 mg/contenitore) Acido borico (27 g/contenitore) Timolo | 7 | |
| Osmolalità | Mertiolato (150 mg/contenitore) Timolo | 1 | |
| Urea | Mertiolato (150 mg/contenitore) Acido borico (27 g/contenitore) Timolo | 23 | |
| Creatinina | Mertiolato (150 mg/contenitore) Timolo | 2-3 | |
| Calcio | 50 mL HCl 3 mol/L | 7 | |
| Fosfati | 50 mL HCl 3 mol/L | 7 | |
| Proteine totali | Mertiolato (150 mg/contenitore) Timolo | 2-3 | |
| Glucosio | Mertiolato (150 mg/contenitore) Acido | 7 | |
| Cloruri | Mertiolato (150 mg/contenitore) Acido borico (27 g/contenitore) Timolo | 7 | |
| Amilasi | Mertiolato o timolo | — | |
| Ossalati | 50 mL HCl 3 mol/L | 7 | |
| Acido 5-HIA | 50 mL HCl 3 mol/L | 7 | |
| Acido VMA | 50 mL HCl 3 mol/L | 7 | |

RISULTATI DELLE ANALISI

Gli elementi da prendere in considerazione quando si effettua un esame delle urine sono diversi e possono dare una prima indicazione sullo stato di salute generale di una persona, uno di questi è il colore:



TRASPARENTE

Ottima idratazione



**GIALLO
PAGLIERINO**

Buona idratazione



**GIALLO
CHIARO**

Buona idratazione



**GIALLO
SCURO**

Idratazione scarsa



**COLOR MIELE/
AMBRA**

Idratazione scarsissima



MARRONE

Disidratazione o possibile problema epatico



ROSSASTRO

Sangue nelle urine. Possibile infezione o cibi coloranti



ARANCIO

Possibile problema al fegato e/o biliare



VERDE

Possibile infezione o problema al fegato



SCHIUMOSA

Problemi renali o proteine nelle urine

LIMPIDEZZA E TORBIDITÀ

Un aspetto torbido può segnalare un'infezione delle vie urinarie, dovute alla presenza di pus nelle urine, presenza di batteri, globuli rossi, spermatozoi (nell'uomo), sostanze in forma di cristalli, muco.



Altri parametri...

ODORE:

Se le urine si presentano con un odore dolce, potrebbe voler dire che il paziente soffre di diabete o di un'infezione dell'apparato urinario. L'odore delle urine però può essere condizionato da alcuni cibi (come gli asparagi), vitamine o antibiotici.

PESO SPECIFICO:

questo deve essere compreso tra 1.005 e 1.030 N/m³. Se il peso specifico è superiore al normale, significa che le urine sono molto concentrate, al contrario, se il peso specifico è inferiore al normale, significa che le urine sono molto diluite.

pH:

questo valore deve essere compresa tra i 4,6 e 8,0. Alcuni cibi e medicine possono alterare il pH delle urine. Urine dal pH particolarmente alcalino (superiore a 8) sono caratteristiche di: vomito eccessivo, malattie renali, infezioni dell'apparato urinario o asma. Urine dal pH particolarmente acido (inferiore a 4,6) sono tipiche di condizioni, come enfisema polmonare, diabete, episodi di diarrea severa, uno stato di disidratazione, l'inedia o l'abuso di alcol.

Alterazioni delle analisi delle urine

Ci sono delle circostanze che possono alterare l'esito delle esame delle urine:

- Le terapie farmacologiche
- Il non aver conservato adeguatamente il campione di urine o l'averlo consegnato al laboratorio analisi con estremo ritardo;
- Un esame diagnostico ai raggi X con mezzo di contrasto, effettuato in uno dei 3 giorni antecedenti l'esame delle urine.

INCIDENZE
ONCOLOGICHE
DI UOMINI E
DONNE IN
ITALIA

Campania- ASL Napoli 3 Sud

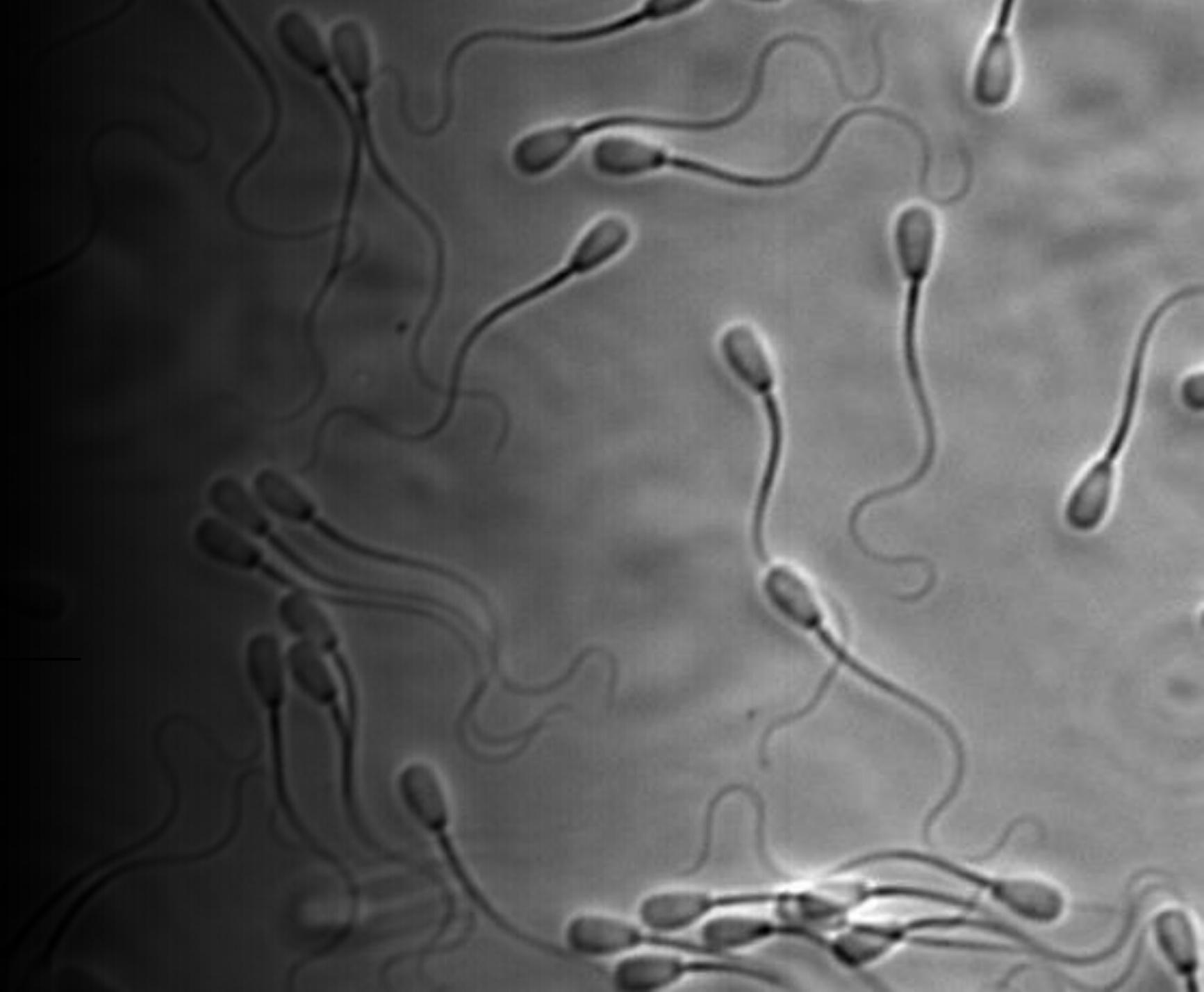
| Sede/ Tipo: | Casi 2015-2019 | Nuovi casi 2020 | Nuovi casi 2021 | Differenza casi | |
|--------------|-----------------------|--------------------|--------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| | Numero medio/ anno | Numero | Numero | *Numero *Anno 2020 Vs 2015-2019 | Numero Anno 2021 Vs 2020 |
| | Utero, collo | 39 | 39 | 45 | +3 |
| Utero, corpo | 135 | 142 | 132 | +8 | -10 |
| Ovaio | 77 | 78 | 78 | -4 | 0 |
| Rene | 46 | 47 | 60 | -2 | +13 |
| Vescica | 48 | 37 | 43 | -13 | +6 |

Campania- ASL Napoli 3 Sud

| Sede/ Tipo: | Casi 2015-2019 | Nuovi casi 2020 | Nuovi casi 2021 | Differenza | |
|-------------|-----------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|------------------------|
| | Numero medio/ anno | Numero | Numero | *Numero *2020 Vs 2015-2019 | Numero 2021 Vs 2020 |
| | Prostata | 480 | 451 | 558 | -33 |
| Rene | 83 | 101 | 88 | +8 | -13 |
| Vescica | 228 | 224 | 198 | +1 | -26 |



*LIQUIDO
SEMINALE*

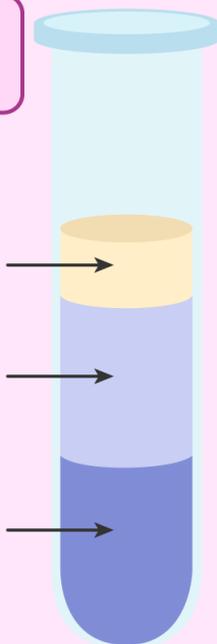


Lo sperma

Lo sperma è un composto organico di consistenza liquido-albuminosa, generalmente di colore bianco oppure bianco-perlato con aspetto opalescente o lattescente, che fisiologicamente contiene cellule germinali dette spermatozoi, prodotte nelle gonadi di animali maschi o ermafroditi e rappresenta una forma di materiale genetico.

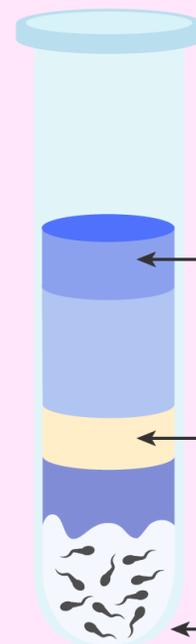
Gradienti di densità

Sperma
Gradiente di densità 40%
Gradiente di densità 80%



Postcentrifugazione

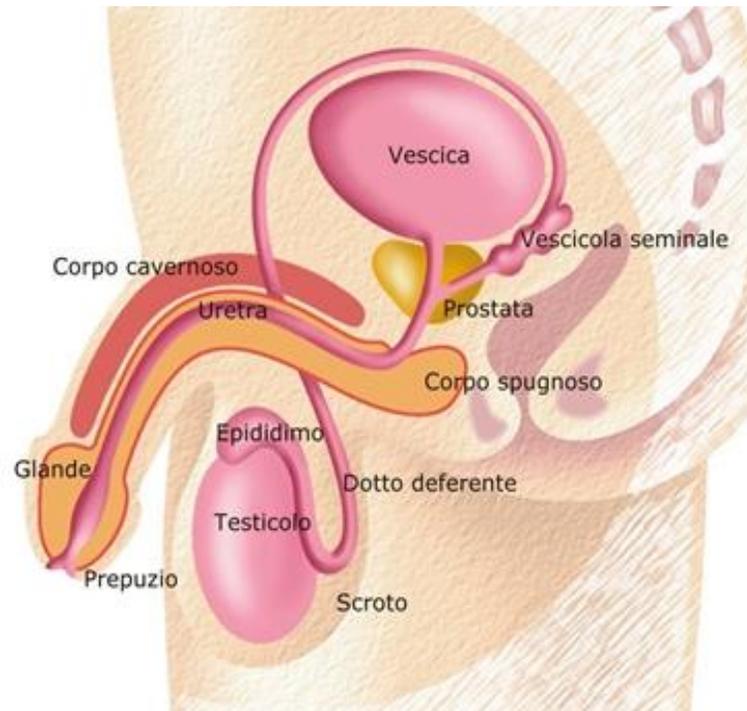
Plasma seminale
Ancora, sperma morto e altre cellule
Spermatozoi mobili



FORMAZIONE E RUOLO DEL LIQUIDO SEMINALE

Quando lo sperma passa attraverso i dotti eiaculatori mescolandosi con i fluidi delle vescicole seminali, della prostata e delle ghiandole forma il liquido seminale.

Il compito dello sperma è la fecondazione dell'ovulo femminile (gamete femminile), durante un processo detto eiaculazione.



+

•

○

FINALITA'

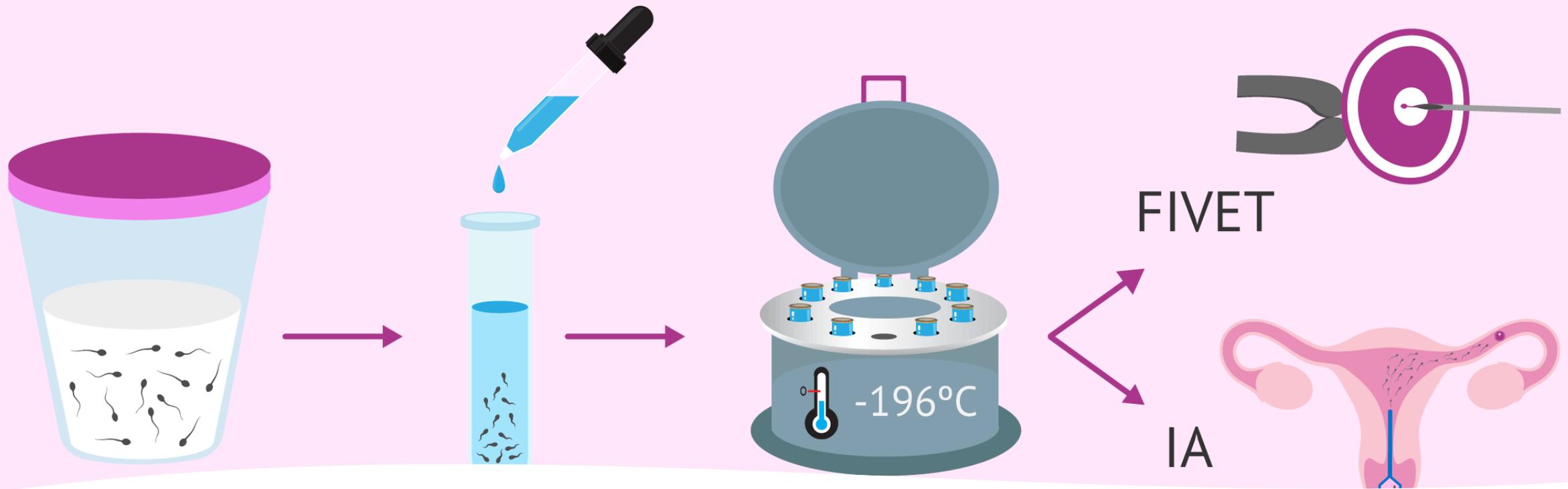
L'analisi del liquido seminale viene fatta per valutare caratteristiche del seme di un maschio e dello sperma in esso contenuto, oltre che alla fertilità o per verificare se è avvenuta con successo o meno l'operazione di vasectomia (consiste nell'interruzione dei vasi deferenti, cioè dei condotti che portano gli spermatozoi dai testicoli al pene).

PRELIEVO DEL LIQUIDO SEMINALE



Il liquido seminale può essere estratto in vari modi, come la masturbazione, la raccolta nel profilattico o estrazione dall'epididimo. L'unico modo in cui il campione non dovrebbe essere estratto è mediante coito interrotto, poiché alcune componenti potrebbero andare perse, oltre che il campione potrebbe subire contaminazioni batteriche e riduzione della mobilità degli spermatozoi.

Il liquido seminale viene raccolto dopo un periodo di 2-7 giorni di astinenza in un contenitore di plastica sterile dove viene aggiunto un diluente che ne permette il mantenimento delle caratteristiche, senza deteriorare l'informazione genetica.



CONSERVAZIONE LIQUIDO SEMINALE

- Il campione deve essere consegnato al Punto Prelievi nel minor tempo possibile, il giorno stesso della raccolta. Eventualmente è possibile conservare il campione in frigorifero a 2/8 °C per massimo 24 ore.

In alternativa

- La crioconservazione del seme, è una metodica che permette di preservare la fertilità maschile. Consiste nel congelamento del liquido seminale a temperatura molto bassa (-196 °C), che garantisce la conservazione degli spermatozoi prima di qualsiasi trattamento potenzialmente lesivo sul piano della fertilità.

LO SPERMIOGRAMMA

Lo spermioγραμμα è un esame per valutare la fertilità maschile. Le risposte fornite dallo spermioγραμμα sulla capacità riproduttiva non sono comunque definitive, poiché si tratta di uno studio in vitro, cosa che può non riflettere il comportamento del liquido seminale nell'apparato riproduttivo femminile.

I risultati devono essere confermati in due esami successivi, raccolti in un intervallo compreso tra una settimana e tre mesi, in modo da avere a disposizione per l'analisi una popolazione spermatica totalmente nuova.

Inoltre, lo studio dello spermioγραμμα deve seguire i valori di riferimento stabiliti dall'OMS.

| Valori di riferimento (Normozoospermia) definiti dall'OMS | |
|---|-------------------------------|
| Parametri | Valori di riferimento minimi* |
| <i>Volume (ml)</i> | 1.5 (1.4-1.7) |
| <i>n° spermatozoi/ejaculato</i> | 39 (33-46) |
| <i>n° spermatozoi/ml (mil/ml)</i> | 15 (12-16) |
| <i>Motilità totale (%)</i> | 40 (38-2) |
| <i>Motilità progressiva (%)</i> | 32 (31-34) |
| <i>Vitalità (spermatozoi vitali, %)</i> | 58 (55-63) |
| <i>Morfologia (forme normali, %)</i> | 4 (3.0-4.0) |
| <i>pH</i> | ≥7.2 |

RISULTATI DELLO SPERMIOGRAMMA

I possibili risultati dello spermioγραμμα sono:

Normozoospermia: eiaculato normale, secondo i valori di riferimento.

Astenozoospermia: alterazione della motilità degli spermatozoi.

Oligozoospermia (o semplicemente oligospermia): ridotto numero di spermatozoi.

Criptospermia: deficit severo di spermatozoi (assenza di spermatozoi nell'eiaculato ma presenza di spermatozoi nel centrifugato).

Azoospermia: assenza di spermatozoi nel liquido seminale.

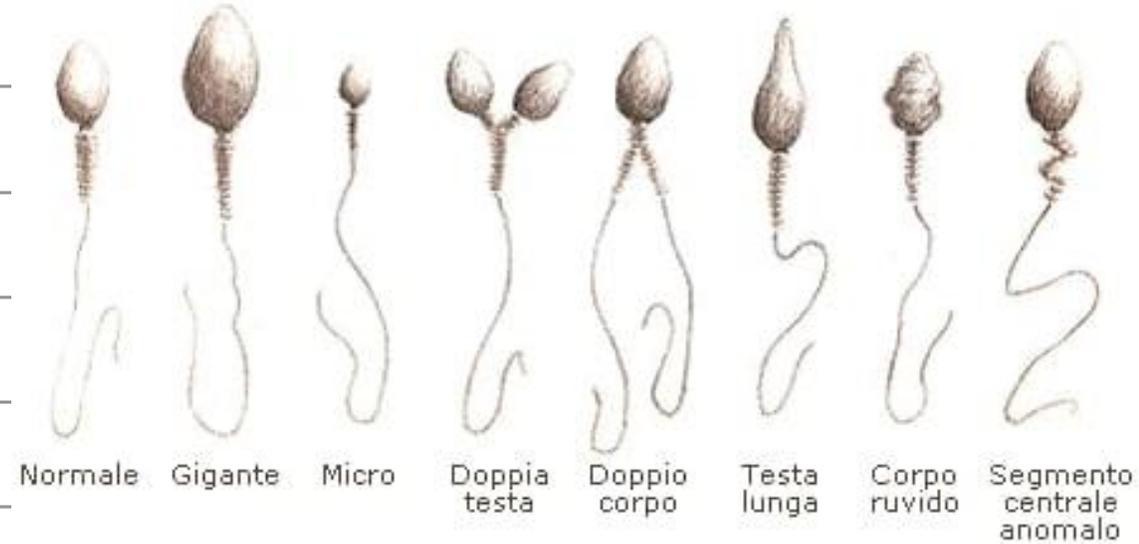
Teratozoospermia: alterazione della morfologia degli spermatozoi.

Ipospermia: riduzione del volume eiaculato.

Iperposia: aumento del volume eiaculato.

Oligoastenoteratozoospermia: alterazione di tutte le variabili.

MORFOLOGIA DEGLI SPERMATOZOI



| | Concentrazione | Mobilità | Morfologia |
|----------|----------------|----------|------------|
| Normale | | | |
| Anormale | | | |

INCIDENZE ONCOLOGICHE NEI TESTICOLI

I principali fattori di rischio sono rappresentati da: età, fattori riproduttivi, fattori ormonali, fattori dietetici e metabolici, stile di vita, pregressa radioterapia a livello toracico, precedenti displasie o neoplasie mammarie, familiarità ed ereditarietà.

Giovanni Rosti¹, Paolo Pedrazzoli²

¹Oncologia Medica Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia – rosti.giovanni@gmail.com

²SC Oncologia Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia e Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia – p.pedrazzoli@smatteo.pv.it

| TESTICOLO | |
|---|--|
| Incidenza | Nel 2022, sono state stimate 2.470 nuove diagnosi. Le stime per il 2023 non sono disponibili |
| Mortalità | Nel 2022, sono stati stimati 134 decessi. Le stime per il 2023 non sono disponibili |
| Sopravvivenza netta a 5 anni dalla diagnosi | 93% |
| Probabilità di vivere ulteriori 4 anni condizionata ad aver superato il primo anno dopo la diagnosi | 96% |
| Prevalenza | Sono 63.400 gli uomini viventi in Italia dopo una diagnosi di tumore del testicolo |



LE FECI

LO SPECCHIO DEL NOSTRO STATO DI SALUTE

Un microbiota Sano

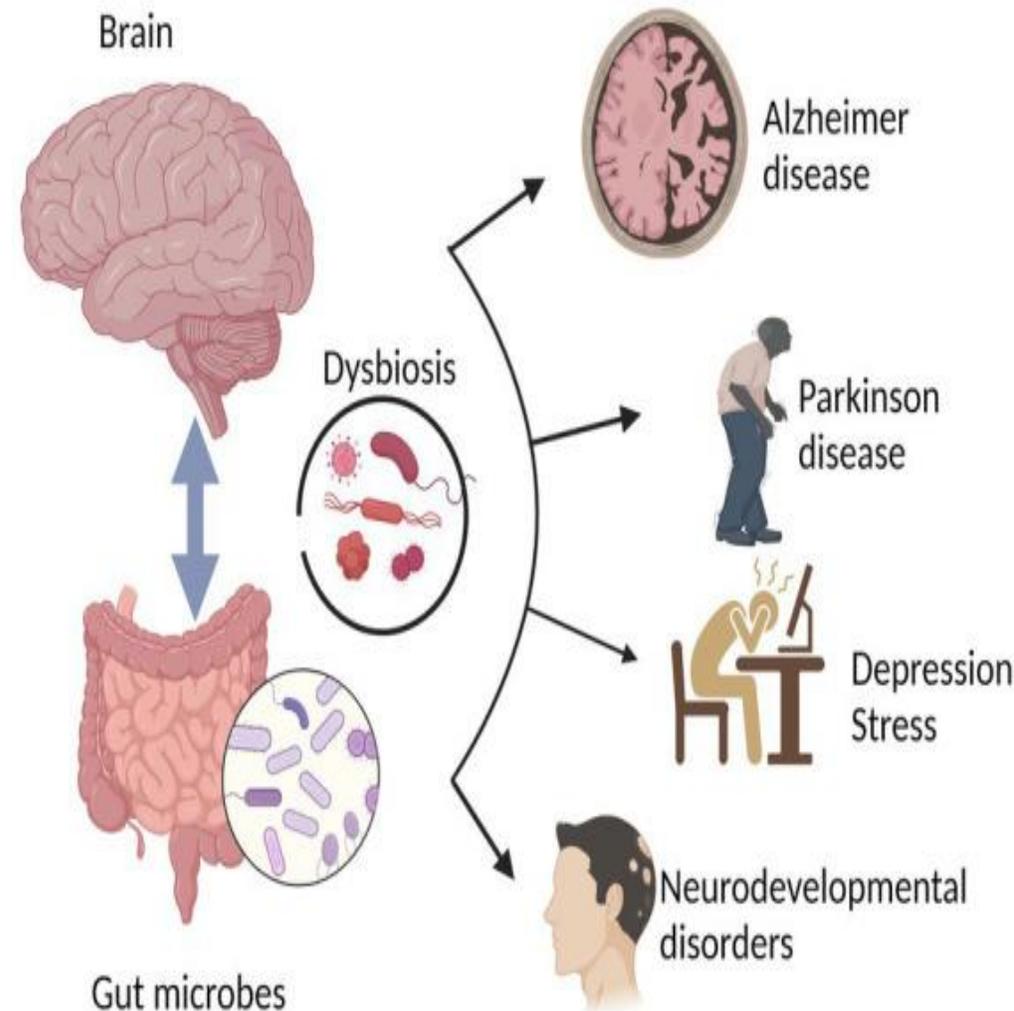
Gran parte della nostra salute lo dobbiamo all'apparato gastrointestinale; grazie ad esso possiamo estrarre i nutrienti dagli alimenti e assorbirli nel sangue per dare energia alle nostre cellule.

Il microbiota intestinale comprende miliardi di microrganismi presenti nel tubo digerente e svolge numerose funzioni per tutto l'organismo. Ad esempio:

- fornisce protezione alla crescita di patogeni;
- regola il metabolismo e il senso di sazietà;
- protegge l'apparato cardiocircolatorio;
- una flora intestinale buona è fondamentale nella risposta immunitaria dell'ospite;

Per salvaguardare il microbiota intestinale bisogna avere un'alimentazione sana e diversificata, principalmente attraverso la dieta mediterranea. Lo sport, inoltre, svolge un ruolo importante in quanto esercita un effetto positivo sulla salute umana.

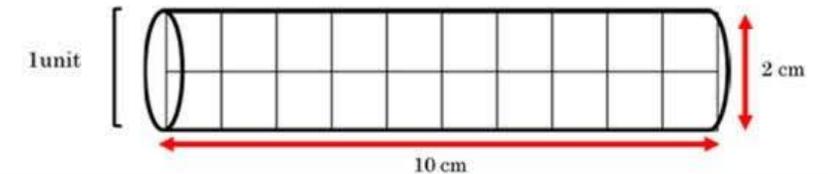
Avere un microbiota sano influenza anche il cervello, infatti, si stima che il 20% delle persone con disturbi o infiammazioni intestinali abbia disturbi del sonno o depressione.



Caratteristiche e composizione

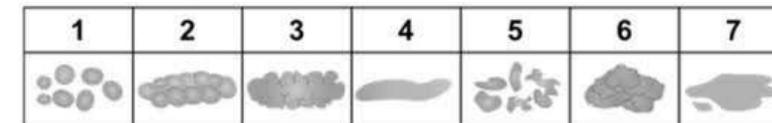
| COMPONENTI | PERCENTUALE | SOSTANZE SECHE | PERCENTUALI |
|------------------|-------------|-------------------------|-------------|
| ACQUA | 66-80% | | |
| ALTRI COMPONENTI | 20-34% | COMPOSTI ORGANICI | 88-97% |
| | | AZOTO | 5-7% |
| | | FOSFORO | 3-5.4% |
| | | POTASSIO | 1-2.5% |
| | | CARBONIO | 40-55% |
| | | CALCIO | 4-5% |
| | | RAPPORTO CARBONIO/AZOTO | 5-10% |

Stool volume model ^{a)} 1. 0.5 unit 2. 1 unit 3. 1.5 units 4. 2 units
5. 2.5 units 6. 3 units 7. 3.5 units 8. > 4 units

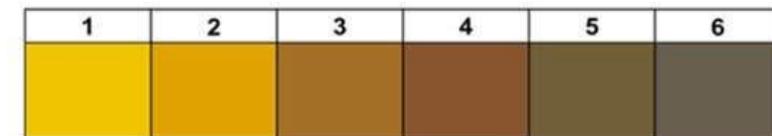


Form ^{b)}

1. Separate hard lumps, like nuts (hard to pass)
2. Sausage-shaped but lumpy
3. Like a sausage but with cracks on its surface
4. Like a sausage or snake, smooth and soft
5. Soft blobs with clear-cut edges (passed easily)
6. Fluffy pieces with ragged edges, a mushy stool
7. Watery, no solid pieces



Colour ^{c)}



Odour ^{d)}

1. Odourless
2. Slightly strong
3. Strong
4. Very strong

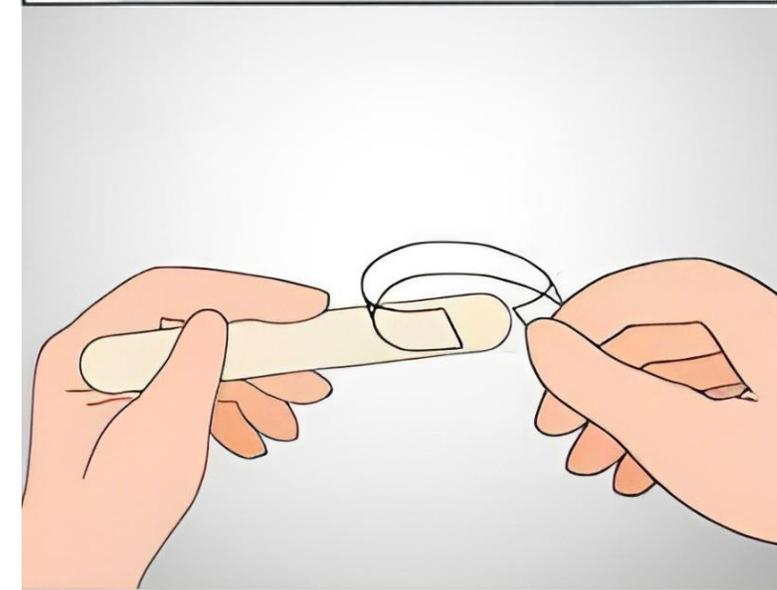
Prelievo e Analisi

Il prelievo delle feci si distingue in base della tipologia di analisi che si va a svolgere:

- coprocoltura, ricerca parassiti ed esame completo;
- ricerca sangue occulto;
- scotch test

Per i primi due tipi di esami bisogna prelevare il campione per 3 giorni consecutivi e riporlo nell'apposito contenitore, che va successivamente conservato ad una temperatura compresa tra i 2-8°C

Per lo scotch test, come suggerisce il nome, si utilizza dello scotch trasparente e dopo aver applicato pressione per 30 secondi circa, si trasferisce il prodotto su un vetrino per valutare la presenza di uova di *Enterobius vermicularis*.



Le patologie dell'intestino

Le analisi sulle feci contribuiscono alla ricerca di patologie dell'uomo annesse al sistema gastro-intestinale.

Queste patologie sono tutte causate dall'alterazione di uno o più microbioti intestinali, che generano in alcuni casi patologie molto gravi come cancro al colon retto o malattia di Crohn.

La ricerca scientifica fa ogni giorno passi da gigante per salvaguardare le persone con disturbi intestinali onde evitare ripercussioni in quanto spesso collegato ad altri organi come fegato, stomaco, pancreas.

I test sulle feci rimangono una via molto meno invasiva e meno dispendiosa per le diagnosi dell'uomo, anche se il livello di accuratezza è inferiore rispetto ad una colonscopia (nel caso del cancro al colon retto, che però rimane molto invasiva e dispendiosa).

| PATOLOGIA | ALTERAZIONE DEL MICROBIOTA |
|-------------------------------|--|
| infiammazioni intestinali | <i>Enterobacteriaceae</i> (aumento), <i>Clostridia</i> (riduzione) |
| malattia di Crohn | <i>Escherichia coli</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Clostridium difficile</i> |
| artrite reumatoide | <i>Prevotellaceae</i> |
| stitichezza | <i>Enterobacteriaceae</i> , metanogeni (aumento) |
| sindrome del colon irritabile | <i>Ruminococcaceae</i> (riduzione) |
| calcoli alla cistifellea | <i>Mollicutes</i> (riduzione) |
| incontinenza urinaria | <i>Odoribacteraceae</i> (riduzione) |
| acne | <i>Deltaproteobacteria</i> (riduzione) |
| artrosi | <i>Lentisphaeria</i> (riduzione) |
| allergie alimentari | <i>Comamonadaceae</i> , <i>Enterococcaceae</i> , <i>Bacteoidaceae</i> (aumento) <i>Bifidobacteriaceae</i> , <i>Ruminococcaceae</i> , et al. (riduzione) |
| obesità | aumento del rapporto <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> |
| diabete di tipo 2 | <i>Escherichia coli</i> (aumento), <i>Clostridia</i> (riduzione) |
| cancro dello stomaco | <i>Helicobacter pylori</i> |
| cancro del colon retto | <i>Prevotella</i> (aumento) |

LE FECI E IL TUMORE AL COLON-RETTO

Spesso la presenza di sangue occulto nelle feci può essere causato dal tumore al colon-retto il quale va poi confermato con ulteriori accertamenti.

Secondo alcune ricerche, dato il livello di batteri nell'intestino tenue, si stima che i livelli di batteri nell'intestino crasso siano 12 volte più alti e si riscontrano più tumori nel colon che nell'intestino tenue.

Carmine Pinto

Oncologia Medica, Comprehensive Cancer Centre, AUSL-IRCCS di Reggio Emilia – pinto.carmine@ausl.re.it

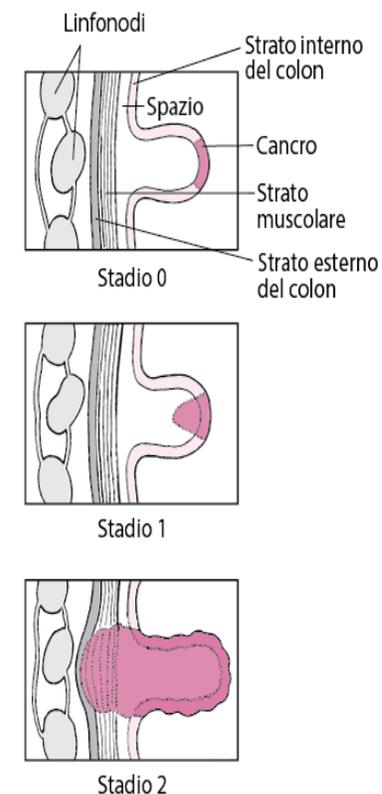
| COLON-RETTO | |
|---|---|
| Incidenza | Nel 2023, sono state stimate circa 50.500 nuove diagnosi (uomini = 26.800; donne = 23.700) |
| Mortalità | Nel 2022, sono stimati 24.200 decessi (uomini = 13.000; donne = 11.200). Le stime per il 2023 non sono disponibili |
| Sopravvivenza netta a 5 anni dalla diagnosi | 65% negli uomini e 66% nelle donne |
| Probabilità di vivere ulteriori 4 anni condizionata ad aver superato il primo anno dopo la diagnosi | 77% negli uomini e 79% nelle donne |
| Prevalenza | Sono 513.500 le persone viventi in Italia dopo una diagnosi di tumore del colon retto (uomini = 280.300; donne = 233.200) |

TABELLA 11. Confronto delle incidenze oncologiche 2015-2019 verso 2020 e 2021 in Campania e in Friuli Venezia Giulia: uomini

*Differenza calcolata dopo aggiustamento per cambiamento percentuale annuale medio (APC) nei tassi di incidenza 2015-2019

| | | Campania- ASL Napoli 3 Sud | | | | |
|-------------|--------------------|----------------------------|-----------------|---------------------------------|--------------------------|--|
| | | Casi 2015-2019 | Nuovi casi 2020 | Nuovi casi 2021 | Differenza casi | |
| Sede/ Tipo: | Numero medio/ anno | Numero | Numero | *Numero *Anno 2020 Vs 2015-2019 | Numero Anno 2021 Vs 2020 | |
| Tutte | 3.140 | 2.629 | 2.892 | -360 | +263 | |
| Colon-retto | 365 | 252 | 360 | -101 | +108 | |
| | | Campania- ASL Napoli 3 Sud | | | | |
| | | Casi 2015-2019 | Nuovi casi 2020 | Nuovi casi 2021 | Differenza | |
| Sede/ Tipo: | Numero medio/ anno | Numero | Numero | *Numero *2020 Vs 2015-2019 | Numero 2021 Vs 2020 | |
| Tutte | 2.707 | 2.332 | 2.504 | -330 | +172 | |
| Colon-retto | 296 | 231 | 257 | -67 | +26 | |

TABELLA 12. Confronto delle incidenze oncologiche 2015-2019 verso 2020 e 2021 in Campania e in Friuli Venezia Giulia: donne.



RESEARCH ARTICLE

Open Access

Feasibility of self-collection of fecal specimens by randomly sampled women for health-related studies of the gut microbiome

Heather Spencer Feigelson^{1*}, Kimberly Bischoff¹, Mary-Anne E Ardini², Jacques Ravel³, Mitchell H Gail⁴, Roberto Flores^{5,6} and James J Goedert⁵

In uno studio risalente al 2014 sui metodi di auto-raccolta delle feci svolto da *Heather Spencer Feigelson et al.* nel quale si esplica una ricerca su campioni di feci su delle donne per studiarne il microbioma intestinale. Per prelevare il campione fecale è stata utilizzata una provetta Sarstedt da 10 ml con tappo a vite.

Le partecipanti hanno utilizzato un misurino pulito attaccato al coperchio della provetta per raccogliere il campione e chiuso la provetta avvitando il coperchio; il tutto per 4 giorni consecutivi. Due provette sono state precaricate con 5 mL di RNeasy Lysis Buffer (Qiagen) e due con 5 mL di soluzione salina tamponata con fosfato (PBS) sterile. I tubi sono stati poi fissati nell'inserto in schiuma per la spedizione e le confezioni di gel congelato sono state aggiunte alla scatola di spedizione per mantenere una giusta temperatura di conservazione.





*Conservazione e trasporto
dei campioni biologici*

A cosa serve conservare campioni biologici

La conservazione del campione, oltre a creare una "deposito" o "banca" di campioni clinici, serve nel caso in cui:

- si necessita una ripetizione delle analisi errate o con risultati dubbi;
- si necessitano nuove analisi non previste durante la prima fase di indagine clinica;
- poter analizzare tutti i campioni prelevati, anche in momenti differenti.

Alterazioni da evitare

I campioni possono subire delle alterazioni di tipo:

- Biologici o metabolici, che comprendono tutte le alterazioni legate ai sistemi energetici, formazione e/o presenza di gradienti di concentrazione, variazione della permeabilità cellulare, differenze concentrazioni di analiti.
- Chimico-fisico, legate a fotolisi denaturazione (analiti di natura proteica), fenomeni di polimerizzazione, formazione di ponti disolfuro, interazioni a idrogeno ed elettrostatiche, forze di Van der Waals.
- Fisico, come fenomeni di evaporazione (aumento delle concentrazioni), precipitazione, adsorbimento o desorbimento degli analiti sulle superfici interne del contenitore, fenomeni di diffusione.



Una buona conservazione

Attuare una buona conservazione ha un'importanza unica nei laboratori in quanto garantiscono il mantenimento della qualità morfologica e della vitalità del campione, rallenta le reazioni enzimatiche, preservando quindi anche le caratteristiche chimico-fisiche.

I campioni biologici per essere correttamente conservati hanno bisogno di un pre-trattamento al fine di preservare l'integrità del campione come ad esempio l'aggiunta del fluoruro di potassio per evitare la degradazione del glucosio.

Oltre a mantenere una corretta temperatura di conservazione, bisogna controllare anche il pH tramite l'aggiunta di soluzioni tampone al fine di evitare la degradazione o di precipitazione dei campioni.

| Temperatura | Sistema | Utilizzo |
|-------------------|----------------------|--|
| +4 °C | Frigorifero | Sangue e conservazione temporanea di altri campioni |
| -20 °C | Congelatore | Siero, plasma, fluidi biologici |
| -80 °C | Ultracongelatore | Siero, plasma, fluidi biologici, sezioni e biopsie |
| -150 °C / -195 °C | Sistema criogenetico | Cellule staminali, midollo osseo, materiale per trapianti e materiale riproduttivo |

In ambito tossicologico forense



Le analisi in tossicologia forense prevedono l'esame di più matrici biologiche come sangue, urina, matrici cheratiniche, saliva. I cui rispettivi esiti, da soli o in combinazione tra loro, forniscono elementi utili per una corretta diagnosi con valenza tossicologico-forense / medico-legale in diversi ambiti di applicazione. Ad esempio nei casi di guida sotto l'influenza di sostanze d'abuso.

Le strutture e il personale deve rispettare alcuni requisiti di certezza e di affidabilità, oltre che di trasparenza e uniformità.

Infatti, i campioni devono essere messi in custodia e tracciati dal momento del prelievo fino al compimento di tutte le analisi del caso, compreso lo smaltimento. 3 punti fondamentali:

- La documentazione puntuale di ogni fase analitica;
- La tracciabilità di ogni fase analitica;
- La riconducibilità di ogni singolo campione all'individuo da cui proviene.

Le analisi possono essere eseguite su:

- Esseri viventi
- Cadaveri
- Materiale non biologico (polveri, liquidi)



Un corretto procedimento: il Prelievo

Il momento del prelievo costituisce il primo step della catena.

Per procedere innanzitutto bisogna registrare:

- Tipologia
- Caratteristiche
- Idoneità del campione.

Dopodiché si appunta:

- La sede di raccolta ed analisi del campione;
- La data e l'ora della raccolta;
- Il nome e firma di chiunque abbia avuto in custodia il campione;
- L'identificatore univoco che accomuna il verbale di prelievo (segnato con un codice a barre);
- La catena di custodia;
- Le diverse misurazioni del campione

Il laboratorio, inoltre, è tenuto ad indicare in un documento le modalità di registrazione del prelievo; caratteristiche del luogo del prelievo; suddivisione dei compiti del personale e procedure svolte per il campionamento.



Un corretto procedimento: la Conservazione

Dopo aver prelevato i campioni è importante trasportarli in sicurezza fino al raggiungimento del laboratorio. Bisogna indicare data, ora del trasporto, l'identità dell'operatore che consegna e chi riceve i campioni in laboratorio.

Qui dei tecnici analizzano l'integrità del campione e procedono successivamente alla conservazione in frigorifero a 4 °C ed entro 48H all'analisi. Nel caso in cui l'analisi che devono essere sottoposte a revisioni/conferma bisogna riporli in un congelatore a -20 °C.

Per campioni che devono essere conservati per alcuni mesi o più devono essere riposti in appositi contenitori e congelati (sangue, saliva urina; prodotti cheratinici a temperatura ambiente) a -20 °C ed il congelatore chiuso con un lucchetto ed ogni movimento segnato su un'apposita modulistica.



Un corretto procedimento: risultati e referto

La documentazione dei risultati analitici è obbligatoria, questi vanno consegnati all'Autorità, struttura o persona fisica che ha richiesto l'accertamento. Un referto tossicologico con validità medico-legale deve contenere:

- numero identificativo univoco del campione;
- dati anagrafici del soggetto sottoposto all'accertamento;
- data di raccolta del campione (o di ricevimento, per campioni da sede esterna) e di refertazione;
- nome autorità, struttura o persona fisica che ha richiesto l'accertamento;
- informazioni relative a matrice biologica analizzata, tipologia di analisi eseguita,
- metodo analitico utilizzato e valori di cut-off di riferimento;
- risultati delle analisi eseguite, in caso di positività nomi delle sostanze rilevate e relative concentrazioni;
- firma di chi ha eseguito le analisi.

Una volta consegnato il referto i campioni devono essere smaltiti come rifiuti sanitari potenzialmente pericolosi e vanno sempre registrate.

Infine, il laboratorio è tenuto a conservare tutta la documentazione di un'analisi per almeno 3 anni dalla data di emissione del referto





HHS Public Access

Author manuscript

Methods Mol Biol. Author manuscript; available in PMC 2020 January 01.

Published in final edited form as:

Methods Mol Biol. 2019 ; 1897: 89–97. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5 9.

Procurement, storage, and use of blood in biobanks

Jaclyn N. Perry¹, Afreen Jasim¹, Amin Hojat¹, William H. Yong^{1,2,3,*}

In una ricerca del 2019 eseguita da *Jaclyn N. Perry et al.* vengono evidenziati metodi di prelievo, conservazione e l'importanza delle biobanche nella ricerca di nuovi biomarcatori e nuove diagnosi precoci nel trattamento di malattie come i tumori.

Nella ricerca si evidenziano i materiali usati per la raccolta come:

- Provette da 2–10 mL contenenti Na + EDTA,
- Provette da 3–8 mL contenenti litio eparina (LH/PST),
- Provette da 3,5–10 mL contenenti acceleratore di coagulo di silice (SST),
- Provette da 6–8,5 mL contenenti destrosio citrato acido (ACD)

Le provette per la raccolta del sangue devono essere prelevate in un ordine specifico onde evitare la contaminazione degli additivi, inoltre, alcuni analiti del sangue sono stabili a determinate temperature mentre altri sono labili. Quindi, è importante seguire pratiche adeguate di trasporto e conservazione del sangue e delle sue frazioni, al fine di evitare un calo della resa della biomolecola.

Si evidenziano inoltre anche i metodi di conservazione dei campioni come ad esempio:

- Congelatore a cella programmabile
- Frigorifero (4 °C)
- Congelatore (–80 °C) con sistema di monitoraggio

Dopo la raccolta, il sangue intero o le sue frazioni vengono aliquotati in Cryovials per la conservazione a lungo termine. Tutti i campioni dovrebbero essere adeguatamente etichettati e la loro posizione registrata in un database per un facile recupero in futuro

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Maria Ilies, Cristina Adela Iuga, Felicia Loghin, Vishnu Mukund Dhople, Thomas Thiele, Uwe Völker, Elke Hammer, Impact of blood sample collection methods on blood protein profiling studies, Clinica Chimica Acta (2017), doi: 10.1016/j.cca.2017.05.030

Moutachakir M, Lamrani Hanchi A, Baraou A, Boukhira A, Chellak S. Caractéristiques immunoanalytiques de la protéine C-réactive et de la protéine C-réactive ultrasensible. Ann Biol Clin 2017 ; 75(2) : 225-9 doi:10.1684/abc.2017.1232

Wachholz P, Skowronek R, Pawlas N. Assessing the applicability of cerebrospinal fluid collected from the spinal cord for the determination of ethyl alcohol in post-mortem toxicology. *Forensic Sci Med Pathol.* 2023 Mar;19(1):44-49. doi: 10.1007/s12024-022-00560-8. Epub 2022 Nov 28. PMID: 36441476; PMCID: PMC9707177.

Yapıcı Yavuz G, Şimşek Kaya G, Kızıltunç A. Analysis of synovial fluid visfatin level in temporomandibular joint disorders. *Cranio.* 2019 Sep;37(5):296-303. doi: 10.1080/08869634.2018.1429367. Epub 2018 Feb 1. PMID: 29385907.

Worlicek H, Dunz D, Engelhard K. Ultrasonic examination of the wall of the fluid-filled stomach. *J Clin Ultrasound.* 1989 Jan;17(1):5-14. doi: 10.1002/jcu.1870170103. PMID: 2492551.

Chen S, Shao Q, Chen J, Lv X, Ji J, Liu Y, Song Y. Bile acid signalling and its role in anxiety disorders. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023 Nov 23;14:1268865. doi: 10.3389/fendo.2023.1268865. PMID: 38075046; PMCID: PMC10710157.

Lanzilao L, Bianchi I, Grassi S, Defraia B, Brogi M, Da Ros M, Biagioli T, Fanelli A, Pinchi V, Focardi M. Biomarkers of traumatic brain injury in vitreous humor: A pilot study. *Forensic Sci Int.* 2023 Sep;350:111782. doi: 10.1016/j.forsciint.2023.111782. Epub 2023 Jul 7. PMID: 37467521.

Fernandes LL, Pacheco VB, Borges L, Athwal HK, de Paula Eduardo F, Bezinelli L, Correa L, Jimenez M, Dame-Teixeira N, Lombaert IMA, Heller D. Saliva in the Diagnosis of COVID-19: A Review and New Research Directions. *J Dent Res.* 2020 Dec;99(13):1435-1443. doi: 10.1177/0022034520960070. Epub 2020 Sep 16. PMID: 32936047.

Marrinan S, Roman-Urrestarazu A, Naughton D, Levari E, Collins J, Chilcott R, Bersani G, Corazza O. Hair analysis for the detection of drug use-is there potential for evasion? *Hum Psychopharmacol.* 2017 May;32(3). doi: 10.1002/hup.2587. Epub 2017 May 31. PMID: 28568705.

Perry JN, Jasim A, Hojat A, Yong WH. Procurement, Storage, and Use of Blood in Biobanks. *Methods Mol Biol.* 2019;1897:89-97. doi: 10.1007/978-1-4939-8935-5_9. PMID: 30539437; PMCID: PMC6777725.

Feigelson HS, Bischoff K, Ardini MA, Ravel J, Gail MH, Flores R, Goedert JJ. Feasibility of self-collection of fecal specimens by randomly sampled women for health-related studies of the gut microbiome. *BMC Res Notes.* 2014 Apr 1;7:204. doi: 10.1186/1756-0500-7-204. PMID: 24690120; PMCID: PMC3974920.



**GRAZIE
DELL'ATTENZIONE**