

Esperienza di Tirocinio presso l'Istituto clinico "Prof. Dr. R. De Blasi": relazione finale

La mia esperienza di tirocinio pre-laurea presso l'Istituto Clinico "Prof. Dr. R. De Blasi", di una durata di cento ore totali, ha inizio con una full immersion nel laboratorio di **Microbiologia** dell'istituto, dietro mia personale richiesta di poter approfondire le mie conoscenze, già in parte acquisite in Università ma rimaste su un piano ancora prettamente teorico, nell'ambito di questa disciplina. Il mondo dei microrganismi, di tutto ciò che è vita ma che non possiamo a occhio nudo vedere mi ha sempre affascinata, specie scoprire che cosa essi, in bene e in male, possano comportare per l'uomo e per la sua salute. Durante i miei studi universitari di microbiologia mi sono sempre in modo particolare soffermata su quelli che sono gli aspetti meramente "patologici" dell'universo batterico, sviluppando un interesse particolare per i meccanismi patogenetici, il tipo di infezione e la sua manifestazione fino ad arrivare alla malattia conclamata e infine il modo che il nostro organismo ha di rispondere a tutti questi processi che avvengono al suo interno. A tutto ciò, tuttavia, mi sono sempre approcciata con un tipo di studio prettamente teorico, essendo state poche le possibilità di vedere "sul campo" quale realmente fosse il tipo di approccio pratico alla disciplina ed è stato proprio questo aspetto, tra le altre cose, che durante l'esperienza di tirocinio ho avuto modo di osservare, apprendere e in parte poter personalmente "toccare con mano". Ho avuto la possibilità di osservare al microscopio ottico strisci di pazienti infetti e poterli confrontare con quelli di pazienti in salute, vedere come si muovono i microrganismi e le loro differenze strutturali rispetto alla cellule. Cito con particolare interesse l'osservazione del protozoo *Trichomonas vaginalis*, patogeno non solo per l'individuo infettato ma particolarmente pericoloso anche per il feto qualora la paziente contragga l'infezione durante la gestazione. Quest'ultimo aspetto, nello specifico, mi è tornato molto utile come ulteriore conoscenza per approfondire il mio progetto di tesi a proposito delle "Infezioni perinatali". Ho potuto inoltre apprendere come si osserva una crescita batterica, mediante scelta di apposite piastre selettive e l'eventuale identificazione mediante l'uso del VITEK2. Ciò che più ha catturato il mio interesse è stato poter acquisire conoscenze di microbiologia che andassero ben al di là di quello che si trova sulle pagine dei libri, poter capire quali sono i tipi di infezione più comuni sulla base delle analisi richieste dai pazienti e quali sono invece i tipi di infezione più pericolosi se riscontrati in determinate fasi della

vita di una persona: un esempio è stata la frequente richiesta della ricerca dello *Streptococcus agalactiae* da parte delle pazienti in gravidanza, anche questo particolarmente pericoloso per il feto e per il normale andamento della gestazione.

Un altro settore che ho avuto modo di osservare ed apprezzare è stato quello di **Anatomia patologica**. Avendo precedentemente studiato cenni di Patologia generale e la parte relativa alla Citologia e Istologia, avevo già una certa familiarità con concetti quali la risposta infiammatoria, la progressione tumorale fino al riconoscimento di una neoplasia in atto oppure l'allestimento di un vetrino da poter poi osservare per effettuare una diagnosi. Ciò di cui invece non avevo conoscenza era tutto ciò che avviene prima dell'osservazione del vetrino: ho avuto modo di osservare campioni biotici o derivati da una asportazione chirurgica, capire come questi vengono descritti macroscopicamente, sezionati e osservati dall'interno per capire di che neoformazioni si tratti e di quale gravità. Ho osservato come il tutto venga successivamente preparato per allestire un vetrino e infine come il vetrino stesso venga "letto" per poter dare un attendibile referto al paziente. Un tipo di ricerca che ho sempre trovato particolarmente interessante è quella relativa alle neoplasie e alla progressione tumorale. A tal proposito ho trovato molto interessante e costruttivo poter osservare come appaiono le cellule del collo dell'utero infettate dall'oncovirus HPV: effetto citopatico particolarmente marcato, alone perinucleare e nuclei morfologicamente e cromaticamente alterati. L'osservazione e il confronto di diversi campioni mi hanno permesso di rendermi conto io stessa delle differenze morfologiche ben rilevabili che si riscontrano tra le cellule di un paziente sano e quelle di un paziente che presenta una qualche forma di alterazione, sia essa una infezione virale o una lesione o un inizio di progressione neoplastica. Un nucleo ipercromatico o dalle forme particolari, così come la forma che la cellula stessa assume sono dei chiari campanelli d'allarme ben visibili in uno striscio citologico; a livello istologico invece, ho potuto apprendere come si debba guardare all'architettura dell'intero tessuto prima di confermare o smentire un sospetto, e quindi alla colorazione particolare che una determinata porzione di tessuto assume rispetto a un'altra o alla formazione intorno ai nuclei di aloni "vuoti" e chiari, ai confini netti demarcati da un tumore che si infila tra cellule non ancora trasformate.

Ancora, una grande sorpresa è stata scoprire che anche la figura del biologo può occuparsi della gestione di una **sala prelievi**. Lontano dal luogo comune che il biologo possa mettere in atto le proprie competenze solo all'interno di un

laboratorio, ho potuto constatare come il lavoro venga svolto mediante una cooperazione e sinergia tra la sala accettazione, la sala prelievi e poi tutti i laboratori, ognuno con il proprio settore e competenze, per le successive analisi dei campioni. Il prelievo ematico viene eseguito dopo un attento controllo di tutti gli esami che il medico curante o lo specialista ha richiesto e verifica che il paziente sia nelle condizioni fisiche idonee per poter effettuare tali analisi; segue quindi la scelta di apposite provette affinché ognuna giunga nel laboratorio esatto per le opportune analisi.

Continuando ancora il mio percorso nella scoperta del “mondo” dei microrganismi, non potevo certo prescindere dall’approfondire la mia conoscenza sul mondo dei **virus**. In base a quello che è il mio progetto di tesi, ho cercato di approfondire soprattutto lo studio e la conoscenza delle famiglie virali che maggiormente hanno una trasmissione verticale e che gravi conseguenze possono avere sul feto. In questa panoramica ho potuto vedere come le analisi si svolgano in maniera quasi completamente automatizzata, con macchinari all’avanguardia che basandosi su un principio di chemiluminescenza e di reazione antigene-anticorpo vanno a rilevare il titolo anticorpale del paziente (specie delle classi IgG e IgM in modo da datare in parte l’infezione) per poter formulare una corretta diagnosi. Ho potuto constatare in che modo dei semplici dati numerici vengano usati e confrontati con dei valori di riferimento per poter capire se nel paziente si possa parlare o meno di infezione o di patologia e l’andamento che questa ha avuto nel tempo mediante la costruzione di appositi grafici. Ho preso familiarità con concetti a me finora sconosciuti e tuttavia di fondamentale importanza, tra i quali il concetto di Avidità degli anticorpi, sul quale si basa un tipo di test che permette non solo di verificare il titolo di anticorpi di classe M e G e stabilire di conseguenza se l’infezione è recente o pregressa, ma anche di inquadrare orientativamente l’infezione nel tempo: il test di avidità delle IgG, infatti, si basa sul presupposto che tali anticorpi sviluppino nel tempo, con l’evoluzione della risposta immunitaria, una maggiore affinità verso il loro antigene, riuscendo a legarsi quindi con maggiore forza (ecco, quindi, l’avidità delle IgG). IgG a bassa avidità sono normalmente presenti durante la fase acuta dell’infezione, mentre IgG ad elevata avidità sono rilevabili dopo che questa si è esaurita: ecco che ciò mi permette in una certa misura di datare l’infezione, fattore questo di primaria importanza se prendiamo in considerazione per esempio una donna in gravidanza, dal momento che infezioni primarie acquisite durante i primi mesi di gestazione o nel periodo immediatamente antecedente al concepimento possono avere

conseguenze ben più gravi sul feto rispetto a riattivazioni, infezioni secondarie o comunque contratte in periodi più avanzati della gestazione.

Infine, ad arricchimento delle mie conoscenze, ho trascorso qualche giorno nel laboratorio di **Genetica medica**, in cui mi è stato possibile non solo concludere e approfondire il percorso già iniziato presso gli altri laboratori, ma anche acquisire qualche nozione in più su una disciplina a me un po' più ostica, giacché le mie conoscenze di base di genetica e biologia molecolare erano un po' più frammentarie. Durante queste giornate mi è stato possibile osservare come viene rilevata in un paziente, a partire da urine, tamponi o altri liquidi biologici, la presenza di tutto un pannello di batteri e protozoi responsabili delle principali malattie sessualmente trasmissibili: una procedura a me nuova, automatizzata e complessa che prevede in un primo momento l'estrazione del DNA dal campione del paziente, seguita poi dalla ricerca nel mio estratto, accanto agli acidi nucleici umani, di un'eventuale presenza di DNA del microrganismo patogeno (*Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* e *Ureaplasma urealyticum*). Una procedura complessa non solo per tutta la fase preparatoria all'estrazione, ma anche in una seconda fase quando, prima di poter leggere i risultati su un apposito monitor, bisogna sottoporre il nostro DNA estratto a una Real Time PCR che mi permette di monitorare in tempo reale l'andamento delle analisi. Mi sono concentrata particolarmente a seguire questo tipo di esame giacché si tratta di un argomento concettualmente molto vicino al mio interesse per le infezioni verticalmente trasmesse o che possano comunque compromettere il feto e il normale andamento di una gravidanza. Sempre in quest'ottica mi è stato molto utile poter osservare e apprendere quanto importante sia ai fini di una fecondazione la rilevazione in un liquido seminale di un certo numero di spermatozoi, dei quali si valuta non solo l'integrità morfologica (della testa e del complesso acrosomiale), ma anche la motilità, così come l'utilità che può avere l'analisi di un cariotipo (ottenuto, in questo caso, a partire da materiale abortivo) per capire se e quali possano essere le cause genetiche responsabili di una interruzione di gravidanza.

Concludo questo percorso con la piena soddisfazione e consapevolezza di aver arricchito notevolmente il mio bagaglio culturale con tutta una serie di concetti e informazioni che, per certi aspetti, hanno ampliato le mie conoscenze di base, per altri, invece, mi hanno fatto scoprire aspetti della Biologia completamente nuovi ed innovativi, contribuendo ancora di più a suscitare in me l'interesse verso questa

vastissima disciplina, con l'obiettivo di renderla, un giorno, il "pane quotidiano" del mio futuro.

Ringraziando tutto il personale del laboratorio ed in particolare il Dr. Lamberti Castronuovo Edoardo ed il Dr. Lamberti Castronuovo Alessandro per l'opportunità offertami, porgo con osservanza Cordiali Saluti.

Erica Bilardi.