FRANCIACORTA 2019
SINTESI DEI CONTRIBUTI TECNICI

AITIC
Associazione Italiana Tecnici Istologia Citologia

Alessandra Bono
FONDAZIONE ONLUS

CITO-ISTOLOGIA IN FRANCIACORTA

Laboratorio e diagnosi
Un legame indissolubile tra Patologo e Tecnico

5 Ottobre 2019

Auditorium 1861 Unità d'Italia
Piazza Carlo Cattaneo
Corte Franca (BS)

Con il Patrocinio di

COMUNE DI CORTE FRANCA

SIAPEC - IAP

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BRESCIA

Sistema Socio Sanitario
Regione Lombardia
ASST Spedali Civili

FONDAZIONE SPEDALI CIVILI BRESCIA

Regione Lombardia

Cito-Istologia in Franciacorta: la collaborazione tra Patologo e Tecnico di Laboratorio

Teresa Ragazzini
Presidente AITIC
Laboratorio di Anatomia Patologica - Ospedale Bellaria di Bologna
teresa.ragazzini@ausl.bologna.it

Il 5 ottobre u.s. presso l'Auditorium 1861 Unità d'Italia in Pazza Cattaneo a Corte Franca (BS) si è finalmente svolto il tanto atteso evento "CITO-ISTOLOGIA IN FRANCIACORTA", evento promosso da AITIC ACADEMY e dalla FONDAZIONE ALESSANDRA BONO, realizzato in collaborazione con GLOBAL STUDIO.

Il filo conduttore dell'evento è stato il focus sulla collaborazione tra il Patologo e il Tecnico di Laboratorio, due figure professionali così diverse tra loro per conoscenze, capacità e competenze, che però lavorano in simbiosi nei servizi di Anatomia Patologica.

E, lasciatemi dire, l'esperienza di tanti anni di lavoro in questo settore mi ha convinto che, maggiore è l'intesa, il feeling lavorativo tra le due professionalità, migliori sono i risultati in ambito sia laboratoristico che diagnostico.

CITO-ISTOLOGIA IN FRANCIACORTA ha avuto relatori, in tutte le sessioni, sia Patologi sia Tecnici di Laboratorio che, nella maggior parte dei casi, hanno lavorato a quattro mani sulle loro presentazioni. Ma anche gli uditori, i partecipanti all'evento, facevano parte di entrambe le figure professionali, oltre a Biologi, Studenti universitari ed altri operatori sanitari che si sono iscritti a questo incontro attirati dall'importanza degli argomenti e direi anche dalla notorietà dei relatori.

Le comunicazioni sono risultate tutte di grande impatto sulla platea e da esse è nato il confronto tra tutti i partecipanti che si è protratto anche nei momenti di pausa e dopo l'intera giornata di lavori.

Termino ringraziando in primis la Fondazione Alessandra Bono per l'aiuto che fornisce ad AITIC Academy (non solo nel caso dell'organizzazione di questi eventi), ma soprattutto perché crede nel nostro lavoro e ci supporta in maniera incondizionata.

Ringrazio infine tutti quanti hanno contribuito all'indiscusso successo dalla manifestazione.

Cito-Istologia in Franciacorta: razionale del corso

Moris Cadei - Massimo Bonardi
AITIC Academy

L'obbiettivo naturale e sostanziale di un Istituto di Anatomia Patologica è la produzione corretta e tempestiva di referti diagnostici su esami citologici e bioptici, il cui conseguimento è legato ad una stretta collaborazione tra il Medico Patologo ed il Tecnico di Laboratorio Biomedico.

L'evento organizzato a Corte Franca il 5 Ottobre 2019 è stato ideato e creato per esaltare il legame indissolubile tra le due figure centrali del Laboratorio con un "format" moderno ed innovativo, con relazioni in binomio finalizzate a descrivere il percorso del campione cito-istologico dal suo arrivo in laboratorio, al tavolino del microscopio.

Figure professionali completamente diverse ma assolutamente complementari lavorano gomito a gomito ed i dati statistici, nonché le esperienze raccolte dai laboratori dimostrano che, maggiore è il feeling tra le due figure, maggiore è la qualità del referto e la precisione diagnostica.

AITIC ci ha sempre creduto ed attraverso i contenuti scientifici di questo incontro ha voluto trattare la cito-istologia dei principali apparati (uro-genitale, mammella, polmone, pancreas e linfonodo) alla luce di questa impegnativa quanto affascinante filosofia lavorativa, avvalendosi per l'occasione di nomi prestigiosi dell'Anatomia Patologica.

Al termine dell'incontro uno spazio è stato riservato alla presentazione di modelli sperimentali e collaborativi con l'Università degli Studi di Brescia realizzati presso il Laboratorio di Anatomia Patologica dell'ASST-Spedali Civili di Brescia ed ai progetti formativo-educazionali attivati da AITIC-Academy grazie alla collaborazione con la Fondazione Alessandra Bono, tra cui il Premio Studio Alessandra Bono (AA 2017-2018).

Presentazione AITIC-Academy

Moris Cadei
Coordinatore Gruppo di Lavoro AITIC-Academy

Sezione di Anatomia Patologica
Università degli Studi di Brescia - ASST Spedali Civili - Brescia

moris.cadei@unibs.it

Il gruppo di Lavoro "AITIC-Academy" è nato, a fine 2016, all'interno dell'Associazione Italiana Tecnici di Istologia e Citologia (AITIC) con il preciso intento di promuovere la collaborazione tra la nostra realtà formativa, le Università e le Aziende del settore dell'Anatomia Patologica.

È stato costituito un Manifesto (vedi Manifesto di AITIC-Academy sul sito di AITIC www.aitic.it) dove sono indicati dettagliatamente i fini del Gruppo di Lavoro e già, nel corso di questi anni, sono state attuate delle iniziative a carattere scientifico e divulgativo.

Tra queste mi piace menzionare la prima edizione del corso Cito-Istologia in Franciacorta, convegno scientifico organizzato in Villa Crespia nel 2017 e l'iniziativa divulgativa aperta al pubblico, organizzata a Corte Franca nel 2018 dal titolo: Mondo Scientifico e Società: vicini o distanti alla presenza di tre illustri accademici (Prof. F. Facchetti - Prof. E. Fulcheri - Prof. L. Rodella).

È in questi due contesti che si incrocia il nostro destino con quello della Famiglia di Alceste e Valerio Bono che, nel 2018, decidono di costituire la Fondazione Alessandra Bono.

La sinergia tra AITIC-Academy e la Fondazione Bono ci ha permesso di sviluppare una collaborazione su temi di carattere scientifico, grazie alla collaborazione con il Laboratorio di Anatomia Patologica dell'Università degli Studi di Brescia (Referente Dr.ssa Piera Balzarini) ma anche di avviare alcune attività formative rivolte ai Tslb strutturati ed ai giovani studenti neo-laureati (sito didattico-educazionale).

La realizzazione della seconda edizione del "Cito-Istologia in Franciacorta: un legame indissolubile tra Patologo e Tecnico", del 5 Ottobre 2019, l'avvio di uno spazio formativo "virtuale" sul nostro sito internet e la conferma del Premio Studio "Alessandra Bono" (un premio annuale dedicato ai laureati in Tecniche di Laboratorio Biomedico che hanno svolto una tesi in Anatomia Patologica), sono la prova tangibile di come si possa fare formazione di elevato livello scientifico rivolgendo lo sguardo agli aspetti tecnico-metodologici che stanno alla base del Laboratorio di Anatomia Patologica.

Siamo molto soddisfatti di questo breve ma intenso percorso che ha trovato nella Presidente e nel Consiglio Direttivo di AITIC, il totale appoggio strategico.

Un ringraziamento doveroso lo devo alla Global Studio che, grazie alla Dr.ssa Anna Maria Pisano, ha sostenuto dal punto di vista tecnico ed organizzativo, tutto il percorso di AITIC-Academy.

Infine, non posso non menzionare l'Amico di sempre e stimato Collega Massimo Bonardi, citologo di comprovata esperienza professionale senza il quale non sarebbe stata possibile la progettazione degli eventi e dei "contest" realizzati in collaborazione con la Fondazione Alessandra Bono.

Grazie davvero, di cuore, a tutti!

Ad Majora semper!!!!

Il linfonodo: dal prelievo al microscopio

Michela Bresciani
U.O. Anatomia Patologica ASST di Cremona
(Direttore Dr. Marco Ungari)

michela.bresciani@asst-cremona.it

L'agoaspirato linfonodale è una procedura ambulatoriale di prelievo citologico che viene eseguito mediante l'inserimento di un ago molto sottile all'interno di un linfonodo.

La procedura può essere eseguita a mano libera (in caso di linfonodo superficiale) o con guida ecografica (in caso di linfonodo profondo).

Tale manovra presenta svariati vantaggi poiché è di semplice e di rapida esecuzione, non richiede ricovero o anestesia del paziente, non ha controindicazioni nè complicanze ed è ripetibile.

Lo striscio ottimale si presenta:

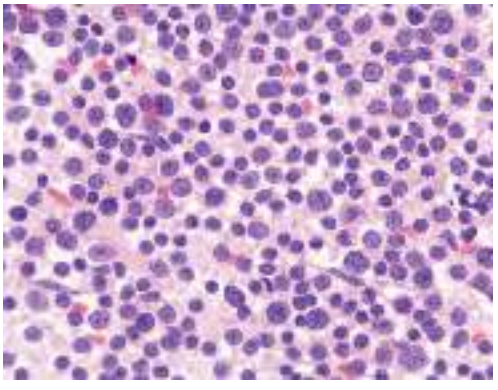
- cellulato
- sottile ed uniforme
- ben fissato

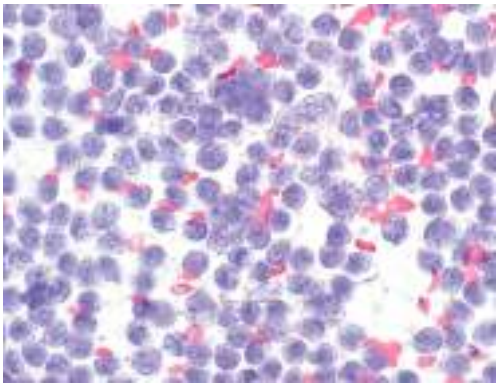
Fissazione ottimale:

Lo striscio non ottimale si presenta:

- ematico e poco cellulato
- non correttamente strisciato
- mal fissato

Fissazione non ottimale:





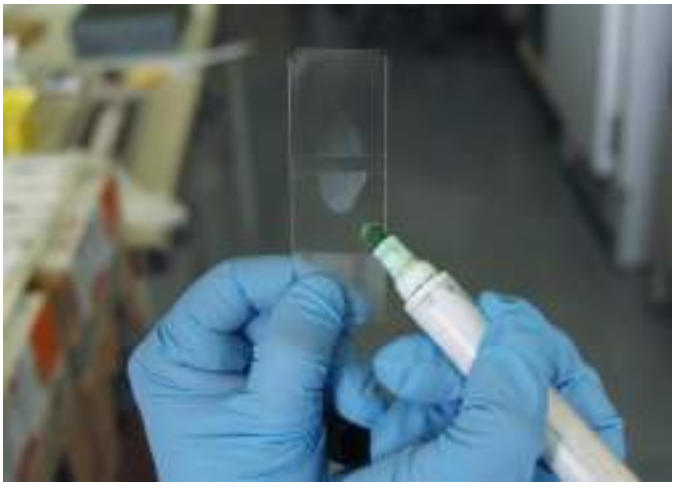
Le colorazioni utilizzate nel nostro laboratorio per il citologico agoaspirato linfonodale sono la Papanicolau e la May Grunwald Giemsa.

La necessità di eseguire indagini approfondite anche sui campioni citologici, ci ha spinto ad utilizzare metodiche di immunoistochimica per completare la diagnosi. I vantaggi dell'IMCH sono la semplicità di esecuzione dell'indagine su strumentazioni già presenti in laboratorio e che quindi necessitano di un limitato impiego di tempo da parte del tecnico di laboratorio e permettono di utilizzare uno smascheramento Ag specifico.

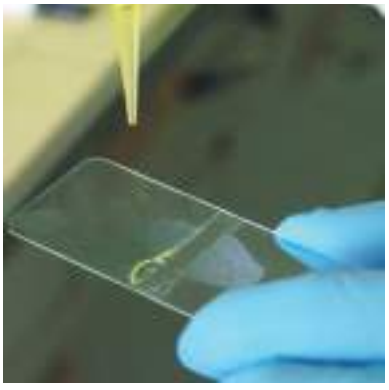
Lo svantaggio però è quello di poter indagare pochi anticorpi per ciascun esame

Abbiamo cercato soluzioni che permettessero quindi di poter indagare un maggior numero di anticorpi con l'esiguo materiale normalmente a disposizione:

- Pap-pen: tecnica che comprende idratazione, decolorazione citoplasmatica, smascheramento antigenico del preparato citologico (utilizzando lo smascheramento più aggressivo) e separazione delle aree da colorare con Ab differenti tramite una penna apposita.



Segue l'incubazione con Ab1 e Ab2
e il successivo sviluppo



Il vantaggio di tale tecnica è che si possono indagare più Ab per ciascun esame, ma gli svantaggi sono numerosi, tra cui il fatto che si tratta di una metodica delicata, che necessita di reagenti dedicati, di uno smascheramento obbligato per alcuni Ab e di impiego di tempo maggiore da parte del tecnico di laboratorio.

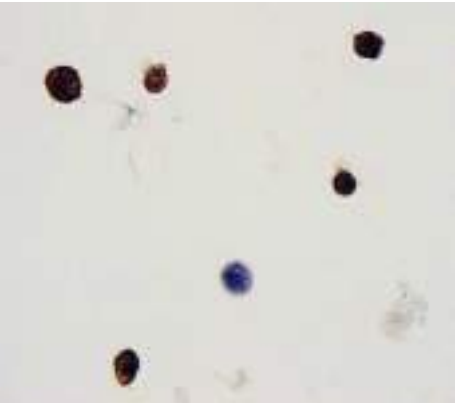
- **Utilizzo di diversi Ab sullo stesso vetrino**: tecnica che comprende l'utilizzo di 2 Ab sullo stesso vetrino del preparato citologico linfonodale. Viene utilizzata la strumentazione di IMCH presente in laboratorio, si effettua lo smascheramento antigenico del preparato citologico (utilizzando lo smascheramento più aggressivo per entrambi gli Ab) e si applicano i diversi Ab quasi contemporaneamente. I risultati ottenuti differiscono a seconda degli abbinamenti di Ab utilizzati. Per alcuni il risultato è buono, per altri invece non si sono raggiunti gli standard qualitativi sufficienti per effettuare una diagnosi certa.

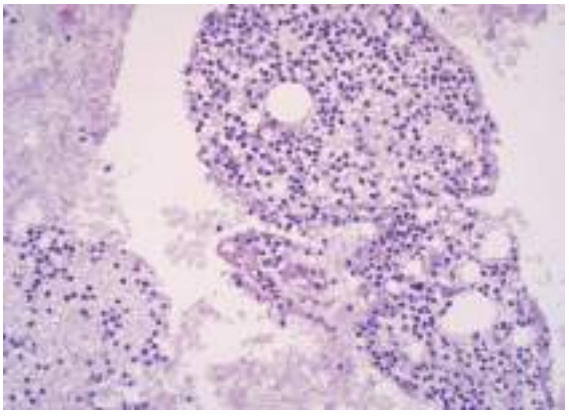
CD20 CD20

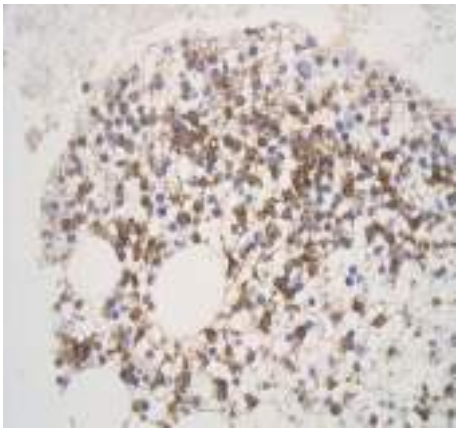
CD3 Ciclina D1

ACCETTABILE NON ACCETTABILE

- **Thin Prep**: questa tecnica comprende invece l'utilizzo del citoincluso ottenuto tramite processazione del campione posto nel contenitore Thin Prep. Durante la procedura di agoaspirazione a mano libera o eco-guidata, il materiale viene posto in un contenitore Thin Prep (solitamente viene sciacquato l'ago dopo l'apposizione del materiare sui vetrini).
  Questo permette di avere materiale aggiuntivo per poter effettuare alcune indagini tra cui quelle immunoistochimiche. Purtroppo però, nel caso specifico degli agoaspirati linfonodali, il risultato ottenuto non è ottimale per poter essere di ausilio nella diagnosi.







Thin Prep **CD20 su Thin Prep**

Si nota dalle immagini sopra riportate come il materiale esaminato risulti essere scarso, privo di architettura e quindi citologicamente non ottimale.

Concludiamo, quindi, con la sola certezza di continuare a cercare soluzioni che possano aiutare ad ottimizzare il materiale a nostra disposizione e con la speranza di poterci confrontare con le Vostre esperienze in merito. Grazie

La patologia del distretto bilio-pancreatico: le scelte del tecnico in sala endoscopica

Massimo Bonardi

U.O. Anatomia Patologica ASST Spedali Civili di Brescia
(Direttore Prof. Fabio Facchetti)

bonardimax@gmail.com

La diagnostica delle patologie neoplastiche legate all'apparato bilio-pancreatico è estremamente complessa.

Questa complessità è dovuta al considerevole numero di organi coinvolti, alla loro stretta correlazione anatomica e alla loro limitata accessibilità chirurgica.

Il ruolo del tecnico di laboratorio è fondamentale per il corretto allestimento degli esami citologici ed istologici, strettamente connesso al lavoro del Patologo e dell'Endoscopista.

Tecnica eco-endoscopica e brushing della papilla

L'ecoendoscopia è una metodica endoscopica che associa alla visione endoscopica tradizionale la possibilità di eseguire un'ecografia endocavitaria dall'interno del tubo gastroenterico, consentendo la valutazione dei diversi strati della parete del viscere in esame e degli organi adiacenti fino ad una profondità di visione di circa 10 cm. Il Brushing della Papilla di Vater è una metodica utilizzata in CPRE per ottenere materiale cellulare dall'Ampolla o, più in alto, dalla via biliare o pancreatica sotto visione radiologica e previa iniezione di liquido di contrasto.

Ruolo del tecnico di laboratorio in sede di colangio-pancreatografia retrograda endoscopica

Il tecnico di laboratorio si avvia verso la sala CPRE munito dei propri strumenti.

Mantenendo la punta dell'endoscopio accanto alla lesione per aumentare la precisione del prelievo, la lesione stessa viene spazzolata più volte e le cellule vengono prelevate per esfoliazione indotta.

Il cytobrush viene così reintrodotto all'interno del proprio rivestimento protettivo, estratto dall'endoscopio e affidato, da parte di un infermiere, al tecnico di laboratorio.

Il tecnico di laboratorio striscia il cytobrush su ogni vetrino e, con l'ausilio di un ulteriore vetrino, cerca di rimuovere la maggior parte del materiale dalla spazzola, producendo così un monostrato cellulare.

Dopo averlo strisciato, il cytobrush viene spezzato alla sua base tramite un tronchesino e la spazzola viene immersa nella provetta contenente cytospin, una miscela prefissativa di alcool etilico, fisiologica, Carbowax e isopropanolo.

Con la maggiore rapidità possibile, i vetrini vengono immersi in alcool etilico al 95%.

Ruolo del tecnico di laboratorio in sede di eco-endoscopia agoaspirativa

Una volta giunto nel sito d'interesse, l'endoscopista aspira con l'ago il materiale da esaminare e, dopo averlo ritratto nella propria protezione, lo estrae dall'endoscopio.

Con l'ausilio di un infermiere, l'ago viene affidato al tecnico di laboratorio che potrà provvedere a realizzare gli strisci dell'aspirato.

Nel momento dell'emissione dell'aspirato dall'ago, il tecnico deve essere pronto ad approcciarsi in modi differenti a seconda del materiale che gli si presenta.

Se all'uscita dall'ago il materiale si presenta liquido, o in gocce uniformi, il tecnico provvederà a strisciarlo sui vetrini e ad immergere quest'ultimi nell'alcool al 95%, il più rapidamente possibile.

Se il materiale dovesse presentarsi sotto forma di frustolo, più o meno lungo e carotiforme, il tecnico si adopererà per conservarlo in una provetta contenente formaldeide. Nel caso in cui il distacco del frustolo risulti difficoltoso, si consiglia l'ausilio di un puntale monouso per favorire il trasferimento del materiale dalla punta dell'ago alla provetta di formaldeide.

Ad esame ultimato, il tecnico di laboratorio identifica i barattoli di alcool contenenti i vetrini e l'eventuale provetta di formaldeide contenente i frustoli.

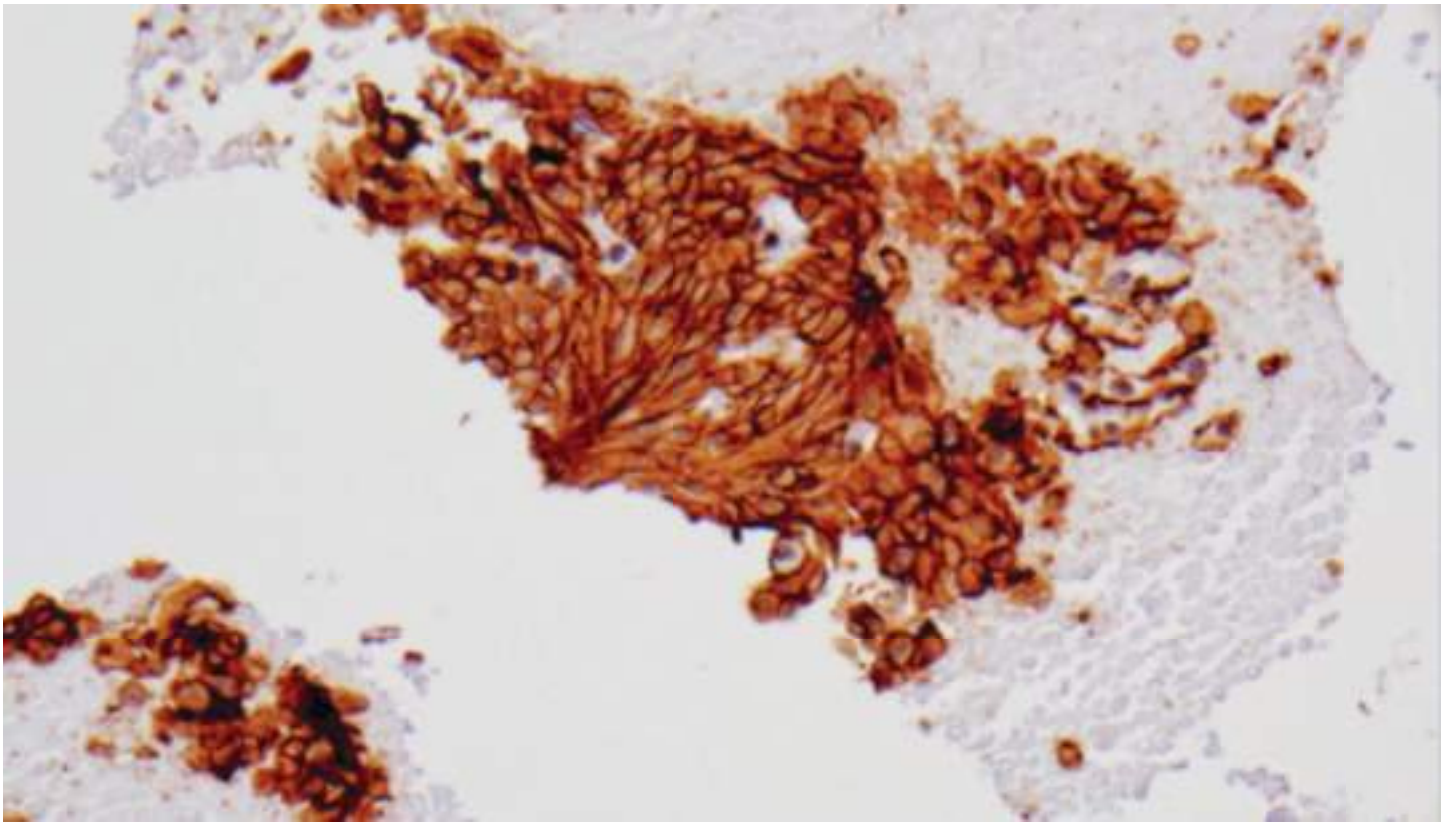
In questa relazione si è voluto soprattutto sottolineare e soffermarsi sull'importanza delle scelte del tecnico in Sala Endoscopica, dalle quali dipende in buona sostanza la buona riuscita dell'esame e una diagnosi sicura. Dette scelte sono la conseguenza di alcuni importanti fattori:

ESPERIENZA: Stiamo lavorando su questo argomento da più di 15 anni e ormai la macchina è ben oleata, al punto che per ottimizzare la tempistica del tecnico siamo in grado di produrre una adeguatezza del 100% senza più bisogno della R.O.S.E.

AFFIATAMENTO: il team è affiatato, e mediante una interazione costante si riesce ad allestire un quantitativo di materiale più che sufficiente ed ottimale per poter affiancare al classico vetrino colorato con Papanicolaou una serie di indagini ancillari preziose per il completamento della diagnosi.

PROFFESIONALITÀ: siamo alla presenza di un paziente sedato, ma non narcotizzato, pertanto occorre discrezionalità, capacità di adattamento e conoscenza della materia per evitare spiacevoli inconvenienti, ma soprattutto per portare al massimo rendimento lo sforzo dell'Endoscopista.

A tutto questo aggiungiamo un pizzico di inventiva e una grande amicizia che ci permette di condurre le operazioni con franchezza e sicurezza.



Un sincero ringraziamento all'Anatomia Patologica degli Spedali Civili, al Prof. Facchetti, ai miei compagni di viaggio nonché grandi professionisti e amici, dottor Villanacci e dottor Moneghini, alle mie colleghe Emanuela e Arianna, e per ultimo al mio amico Moris senza il quale non mi sarei avventurato a Franciacorta 2019.

Citologia mammaria: dalla preparazione citologica alla diagnosi

Rosangela Cordoni
Sezione di citologia diagnostica
Istituto Clinico Città di Brescia - Gruppo San Donato
(Direttore Prof. Sergio Fiaccavento)
citologia.iccb@grupposandonato.it

Siamo a disagio nel ricordare le nostre procedure per ottenere eccellenti immagini perfettamente diagnostiche in citologia agoaspirativa mammaria e tali da consentire un basso numero di C1 e C3 e anche tali da condizionare indirettamente ottime indagini immunocitochimiche. Infatti in più occasioni tali procedure le abbiamo già riportate e per quanto si riferisce a quelle immunocitochimiche, riteniamo che gli insuccessi siano dovuti principalmente ad allestimenti sub ottimali e dipendono solo in parte dalla particolarità nell'allestimento delle colorazioni immunocitochimiche alle quali comunque faremo riferimento anche se riteniamo ormai note a tutti.

Per quanto si attiene alla necessità di ottenere eccellenti preparati colorati con Ematossilina eosina poco da aggiungere a ciò che è noto.

Vogliamo puntualizzare

- **Allestimento**: esistono alcune condizioni oggettive di non adeguatezza /non rappresentatività di un agoaspirato ed una di queste è l'allestimento non ottimale causato da:
- artefatti da essiccamento, essiccamento inappropriato o lento, eccessivo spessore dello striscio, eccesso di sangue
- **La fissazione**: si può considerare una delle operazioni fondamentali del processo citologico di un campione biologico da essa dipende la buona riuscita del preparato microscopico: gli effetti della fissazione infatti sono quelli di bloccare tutti i costituenti cellulari del campione biologico in uno stato che si avvicini il più possibile a quello vitale, preservare l'integrità antigenica ed evitare processi autolitici. In base a queste considerazioni si pone la scelta di un fissativo rispetto ad un altro che viene influenzata in citologia dal tipo di colorazione da utilizzare (ematossilina/eosina, Papanicolaou, MGG).

Riteniamo pertanto che in citologia la fissazione ottimale sia l'immersione dei vetrini in alcol etilico 95% nel tempo più breve dall'aspirazione e solo in alcuni casi l'utilizzo di fissativo-conservante (per allestimento in fase liquida). L'alcool etilico ha come pregio la buona conservazione delle affinità tintoriali dei costituenti cellulari.

NB: ricordiamo che il materiale mal fissato crea modificazioni che mimano atipie con possibili falsi positivi

- **Colorazione**: banalmente ricordiamo che la colorazione di Ematossilina eosina è una colorazione bicromica che si base sul diverso valore di ph; il nucleo e i vari componenti acidi del citoplasma si colorano in blu con Ematossilina (Harris) mentre il citoplasma ed i vari tessuti basaci vengono colorati in rosa più o meno inteso dall'eosina. Dal principio del metodo si crea il protocollo di colorazione che nel nostro caso è una colorazione regressiva dove il nucleo è deliberatamente prima sovra colorato con Ematossilina e poi differenziato con un alcool acido che ne rimuove l'eccesso di colorazione. Questo permette un miglior dettaglio alla visione microscopica.

- **Per quanto si riferisce all'immunocitochimina**: ricordiamo che è una tecnica che riveste un ruolo molto importante nella routine di un laboratorio di Anatomia Patologica che si basa sul principio di coniugazione antigene-anticorpo in addizione poi con sistemi di rivelazione che ne rendono visibile l'avvenuta reazione al microscopio.

La tecnica uitilizzata da noi prevede:
- scolorazione del preparato (considerando che partiamo da preparati già colorati con Ematossilina/eosina già valutati dal patologo ove vengono evidenziate le aree problematiche da indagare);
- recupero antigenico (in caso l'antigene da ricercare fosse stato modificato o mascherato dalle tecniche di allestimento del vetrino);
- inibizione degli enzimi o di altre sostanze endogene che potrebbero cross reagire con i metodi di colorazione utilizzati;
- incubazione con anticorpi primari;
- incubazione con anticorpi secondari;
- sviluppo della colorazione.

Indagini cito-istologiche nella patologia polmonare

Laura Orlandi
U.O. Anatomia Patologica ASST Spedali Civili di Brescia
(Direttore Prof. Fabio Facchetti)

lauraorla81@gmail.com

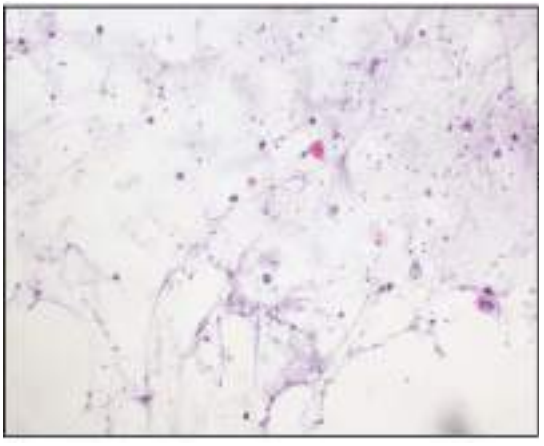
Citologia Polmonare: il laboratorio

Il ruolo delle tecniche citologiche nello studio delle patologie a carico dell'apparato respiratorio ha assunto un'importanza sempre più crescente.

Risulta quindi fondamentale essere a conoscenza delle tecniche di allestimento base di campioni biologici emessi spontaneamente dal paziente o prelevati attraverso l'utilizzo di mezzi di induzione, partendo dalla preparazione di vetrini fino ad arrivare a metodi di processazione più recenti, quali il cell-block o citoincluso.

I materiali che pervengono in laboratorio a fresco possono essere:

- ESPETTORATO
- RUSHING BRONCHIALE
- BRONCOASPIRATO (BAS)
- BRONCOLAVAGGIO (BAL)
- AGOASPIRATO (FNA)
- VERSAMENTO PLEURICO (PLE) ⟶ TORACENTESI

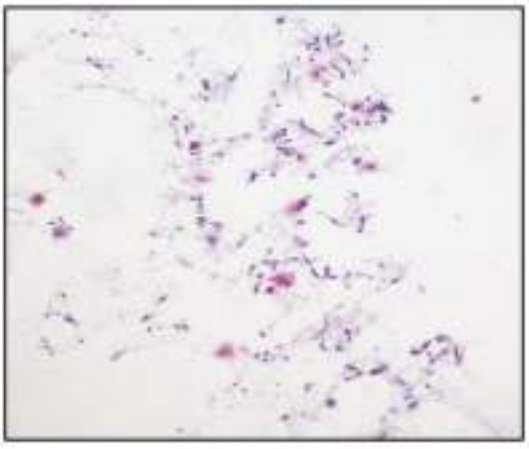


Espettorato

L'esame richiede la raccolta di 3 campioni in 3 giornate consecutive (anche con kit SaveCytU)
Emesso spontaneamente con colpi di tosse dal paziente e versato in un recipiente a bocca larga
Accettazione
Allestimento del materiale che prevede la preparazione di 2 vetrini strisciati dal materiale tal quale
Colorazione di Papanicolaou

Brushing bronchiale

SPAZZOLAMENTO (brushing) di una lesione superficiale sospetta di un bronco, impiegando un idoneo spazzolino (brush).
Il materiale prelevato viene strisciato su vetrini e fissati per immersione in alcool 95°
Consegna in laboratorio
Colorazione con Papanicolaou



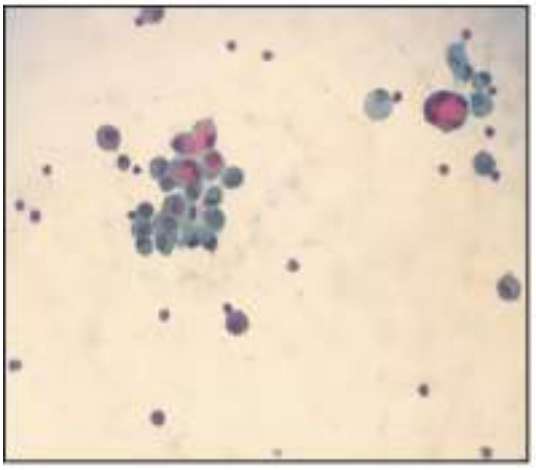
Broncoaspirato (Bas)

ASPIRAZIONE: permette la valutazione di distretti periferici bronchiali
Aspirazione del materiale

Raccolta del campione in appositi contenitori

Accettazione e allestimento di 2 vetrini strisciati dopo centrifugazione del materiale a 1800 giri/10 min.

Colorazione Papanicolaou



Broncolavaggio (Bal)

LAVAGGIO: Dà la possibilità di campionare gli spazi alveolari.
Si inietta una quantità variabile di fisiologia
Aspirazione del materiale
Raccolta in appositi contenitori.
Dopo blando filtraggio del materiale si provvede all'allestimento di 4 vetrini, 3 citocentrifugati dal materiale tal quale e 1 strisciato dopo centrifugazione di una parte del campione a 1800 giri per 10 min.

Colorazione Papanicolaou

Fine needle aspiration (FNA)

Si tratta di agoaspirazione di lesioni effettuate sotto guida ecografica; il materiale prelevato viene strisciato su vetrini fissati in alcool 95°.

È possibile effettuare il lavaggio dell'ago utilizzato per il prelievo con alcool 50° o con formalina al 10%.

Dal lavaggio dell'ago in alcool 50°, in laboratorio, viene allestito un ulteriore vetrino da citocentrifuga che verrà colorato,con i preparati eseguiti in sede ecografica, secondo la colorazione di Papanicolaou.

Dal lavaggio dell'ago in formalina viene allestito il cell-block: se il materiale è simile ad un frustolo bioptico si preleva il campione e lo si trasferisce in una biocasetta da inclusione.

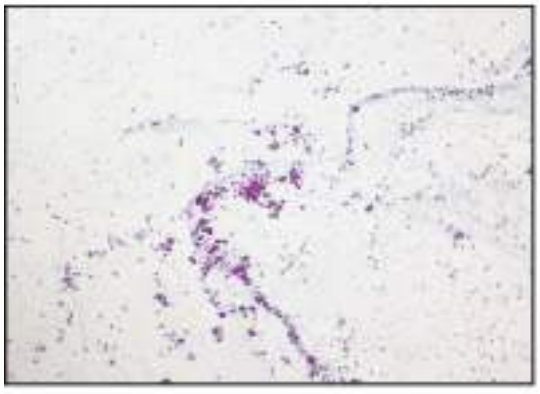
Nel caso in cui il materiale da citoincludere fosse completamente liquido si procede secondo questo protocollo:

- si travasa il materiale in provetta e si centrifuga a 3000 giri per 10 minuti
- il sedimento viene risospeso con fisiologica e ri-centrifugato per 10 min a 3000 giri (per 2 volte)
- al pellet ottenuto vengono uniti PLASMA e TROMBOPLASTINA in rapporto 1: 2
- attraverso l'utilizzo di un'ansa monouso, con movimenti circolari, si risospende la soluzione fino alla creazione del coagulo
- utilizzando un puntale si stacca il coagulo dall'ansa e lo si introduce in una biocassetta da inclusione

Agoaspirato R.O.S.E:

- prelevare
- strisciare
- colorare (colorazione rapida- Hemacolor)
- osservare (citopatologo presente in sede di prelievo)
- decidere se terminare la procedura diagnostica o continuare ancora ad eseguire prelievi.

I vetrini ROSE giungono in laboratorio e devono essere ri-colorati secondo il metodo Papanicolaou.



Versamento pleurico (ple)

Il materiale viene prelevato attraverso la toracentesi
Consegna ed accettazione del materiale in laboratorio
Allestimento del campione che prevede la preparazione di 3 vetrini dopo la centrifugazione di una provetta del materiale a 1800 giri/10 min
Colorazione Papanicolaou
Allestimento del cell-block seguendo le fasi precedentemente descritte, ad esclusione della seconda (lavaggio con fisiologica)

La rivoluzione francese in citologia urinaria

Micaela Donisi

U.O. Anatomia Patologica Istituto Auxlogico italiano - Milano
(Direttore Dr. Giacomo Gazzano)

micaela.donisi@virgilio.it

Dal punto di vista tecnico si è sentita la necessità di standardizzare l'allestimento della citologia urinaria …ed in questo ci è sicuramente utile la metodica dello strato sottile.

LO STRATO SOTTILE:

come si può ottenere

METODICHE A CONFRONTO

Numerose ditte commercializzano strumenti finalizzati all'ottenimento di preparati in strato sottile da campioni citologici ed ogni ditta utilizza uno di questi due principi

FILTRAZIONE

SEDIMENTAZIONE

- **Per gravità**
- **Forzata**

Lavorazione campioni

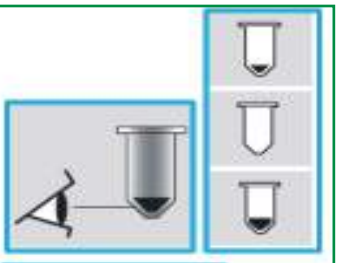
Concentrare mediante centrifugazione 600 g per 10 minuti

Travaso del surnatante e agitazione con vortex per la risospensione del pellet cellulare

Eseguire una seconda centrifugazione con soluzione di lavaggio

Lavorazione campioni

Valutare l'aspetto del pellet cellulare

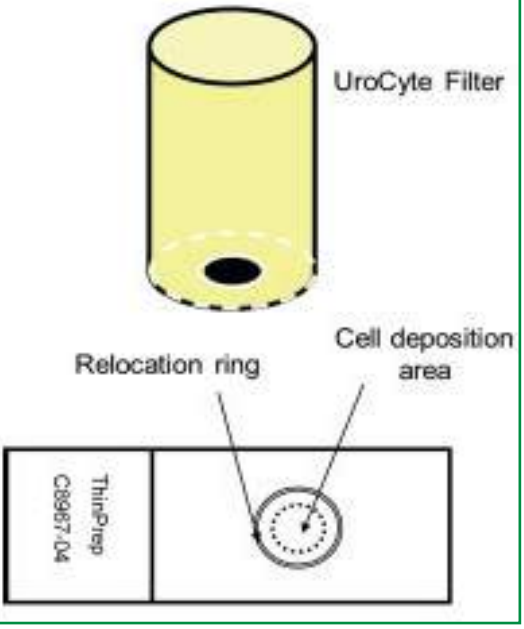


Aggiungere una quantità appropriata di campione (a seconda delle dimensioni del pellet cellulare) alla fiala con la soluzione fissativa

Lasciare il campione nella soluzione fissativa per 15 minuti

- **Specialized filter: 10 mm diameter filter area, 8.5 micron pore size**

- **Specialized microscope slides 16 mm diameter ring for easy cell spot location**



Allestimento vetrini

Inseriamo manualmente vetrino, barattolo senza tappo, filtro, programmiamo e...

START

.....colorazione Papanicolau

Dispersione | Raccolta | Trasferimento

Preventiva agitazione → randomizzazione delle cellule, disgregazione muco e detriti non diagnostici

Il macchinario genera una pressione negativa che spinge il fluido attraverso un filtro

Il filtro aggrega un sottilissimo strato di cellule. Una pressione positiva pressa il filtro contro un vetrino porta oggetto Carico+

Lettura e refertazione

A questo punto i preparati possono essere osservati al microscopio

AITIC - Academy: la collaborazione UNIBS e Fondazione Alessandra Bono per lo sviluppo di nuovi oggetti di ricerca

Piera Balzarini
Sezione di anatomia patologica
Università degli Studi di Brescia - ASST Spedali Civili - Brescia
piera.balzarini@unibs.it

La collaborazione tra la Cattedra di Anatomia Patologia dell'Università degli Studi di Brescia e la Fondazione Alessandra Bono nasce nel dicembre 2017 con la richiesta di finanziamento di un Progetto dal titolo "Messa a punto della metodica FISH su campioni citologici allestini in ThinPrep (strato sottile).

La Fondazione ha recepito favorevolmente la richiesta e nei mesi successivi si è lavorato concentrandosi sull'ottimizzazione della gestione del campione citologico, liquidi pleurici, pervenuto al nostro Laboratorio per l'inquadramento diagnostico di pazienti con sospetto carcinoa polmonare. Il tumore del polmone rappresenta una emergenza non solo nazionale, ma anche locale, si stima che ogni anno ci siano circa 300 nuovi casi. È ad oggi una lesione neoplastica a prognosi infausta, ma negli ultimi anni sono stati individuati numerosi target molecolari che permettono la caratterizzazione del singolo paziente al fine di definire una terapia personalizzata (target therapy).

I pazienti affetti da carcinoma polmonare e in particolare i carcinomi non a piccole cellule (No Small Cell Lung Cancer_ NSCLC) ad istotipo adenocarcinoma in stadio avanzato frequentemente approcciano una prima diagnosi grazie all'esame citologico, ossia la valutazione morfologica e se necessaria, immunofenotipica di cellule neoplastiche sorte in un mezzo liquido (campione citologico). Se confermata la diagnosi di NSCLC_adenocarcinoma, gli oncoologi per la scelta terapeutica hanno necessità di conoscere lo stato mutazionale di EGFR, KRAS e del riarrangiamento cormosomico di ALK, ROS-1, RET e c-MET. Per rispondere a queste richieste è necessario poter disporre di una quantità di materiale biologico che talvolta risulta poco rappresentato. Da qui la necessità di ottimizzare la gestione del campione citologico, pertanto il progetto si è concentrato sulla valutazione della gestione del liquido pleurico con la fase liquida. Questa metodica è stata recentemente introdotta nel settore di citologia nella nostra U.O. di Anatomia Patologica per la gestione del PAP_test. Sono stati presi in considerazione 70 campioni citologi di liquidi pleurici, di cui 22 di origine neoplastica, sono stati sottoposti sia ad allestimento tradizionale (striscio) e in fase liquida (ThinPrep). Ogni campione allestito in doppio è stato sottoposto a valutazione morfologica, immunofenotipica e molecolare. Il lavoro sperimentale è stato discusso in seduta di Laura del Corso in Tecniche di Laboratorio nella sessione di Novembre 2018 e le conclusioni del lavoro svolto sono state così riassunte:

- l'allestimento in strato sottile dei liquidi da versamento pleurico può essere una valida alternativa rispetto al metodo tradizionale sia per l'indagine morfologica sia per ulteriori indagini predittive.
- nell'ambito della patologia polmonare, la tipizzazione in routine richiede la valutazione di un considerevole pannello di geni (EGFR. K-RAS, ALK, ROS-1, RET e MET), pertanto il citologico in fase liquida permette di avere più materiale a disposizione, senza ricorrere ad ulteriori prelievi invasivi in pazienti già sofferenti.

In occasione della riunione amministrativa della Fondazione Bono, tenutasi nel Dicembre 2018, sono stai relazionati tali risultati e contestualmente è stata sottoposto all'attenzione della Fondazione un nuovo progetto dal titolo "Caratterizzazione immunofenotipica e molecolare

del carcinoma polmonare", con particolare attenzione alla definizione del riarrangiamento di ALK sia dal punto di vista genetico, tramite metodica FISH che dal punto di vista immunofenotipico, ossia con tecnica immunoistochimica.

Per lo svolgimento di questo progetto sono stati presi in considerazione pazienti FISH_ALK_POSITIVI e tutti saranno sottoposti a colorazione immunoistochimica per la valutazione dell'espressione proteica di ALK al fine di verificare la concordanza tra le due metodiche in termini di sensibilità e specificità del metodo (Figura 1). Questo al fine di verificare con quale algoritmo sottoporre la valutazione di ALK per l'individuazione di pazienti eleggibili al trattamento con Crizotinib in I linea.

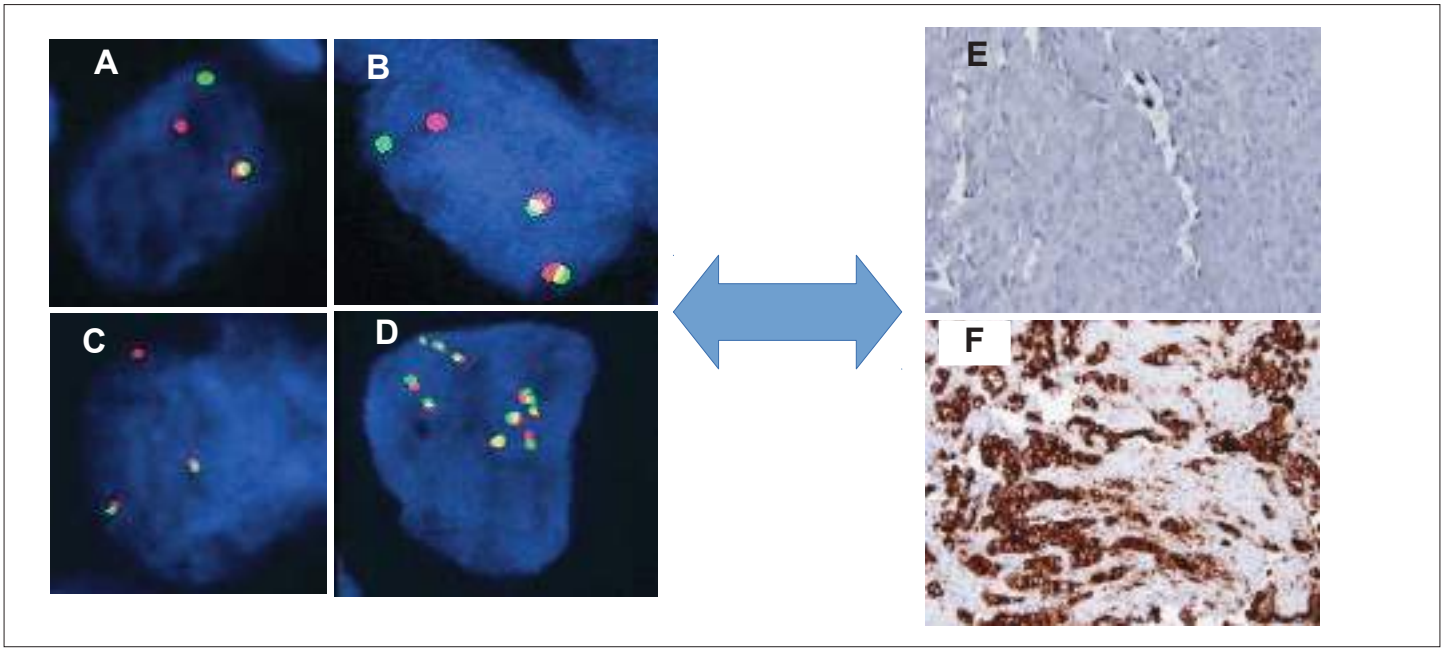


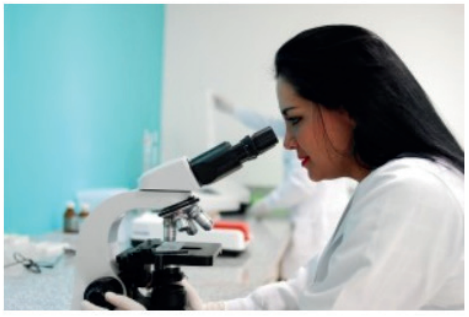
Figura 1
A, B, C: FISH_ALK_positiva;
D: FISH_ALK_GCN_negativa;
E: ALK_IIC_negativa,
F: ALK_IIC_positiva

TESTATA: insalutenews.it **DATA**: 27 Luglio 2019

COMUNICATI STAMPA

Diagnostica molecolare, corso di "Cito-Istologia in Franciacorta" a Brescia

DI INSALUTENEWS.IT · 27 LUGLIO 2019



Milano, 27 luglio 2019 – Com'è o come deve essere al giorno d'oggi il rapporto tra un tecnico di laboratorio e un anatomopatologo? Da questa analisi è nato l'evento Cito-Istologia in Franciacorta, che si terrà il prossimo 5 ottobre all'Auditorium 1861 Unità d'Italia di Corte Franca (Brescia).

L'obiettivo di un Istituto di Anatomia Patologica è di fatto la produzione corretta e tempestiva di referti diagnostici su esami citologici e bioptici, il cui conseguimento è legato a una stretta collaborazione tra il tecnico di laboratorio e l'anatomopatologo. Franciacorta 2019, organizzato da AITIC – Associazione italiana tecnici di istologia e citologia, si propone proprio di esaltare il legame tra queste due figure professionali che, seppur diverse, si completano.

Il convegno sarà caratterizzato da sessioni dedicate alla patologia mammaria, polmonare e urinaria, avvalendosi di un prestigioso parterre di opinion leader ed esperti del settore.

Tra questi, spicca Giovanni Negri, patologo dell'Ospedale di Bolzano: "Sono abituato a lavorare gomito a gomito con i citotecnici e il mio è un rapporto basato sulla fiducia reciproca e sulla stretta collaborazione. Questo tipo di rapporto credo sia fondamentale per il nostro lavoro, soprattutto in citologia. Inoltre, con l'evoluzione dei compiti del tecnico di laboratorio, che sarà sempre più coinvolto anche nell'ambito del campionamento, questi aspetti diventano veramente condizioni imprescindibili".

Siamo nell'era della Precision medicine e delle tecniche di biologia molecolare; crede che abbia ancora senso, al giorno d'oggi, parlare di citologia e di diagnosi citologica?

"Probabilmente oggi ha più senso di ieri, perché la diagnostica molecolare – che diventa non più semplicemente una diagnostica ma una valutazione ai fini terapeutici e prognostici delle neoplasie – richiede sempre meno materiale diagnostico, ma di alta qualità. Si pensi, per esempio, alla valutazione del pattern genetico in metastasi di neoplasie maligne, al fine di eventuali aggiustamenti delle terapie. Sono convinto che la citologia, in grado di fornire prelievi di alta qualità ai fini molecolari con la minima invasività per il paziente, avrà un'espansione in futuro, proprio in quanto integrata con la diagnostica molecolare. Imprescindibile rimane comunque l'aspetto morfologico, necessario per garantire la diagnosi di neoplasia e la rappresentatività del materiale diagnostico".

Su quale argomento si focalizzerà maggiormente durante il corso?

"Mi focalizzerò soprattutto sulla parte della citologia cervico-vaginale, una citologia che è cambiata molto e continua a cambiare, specialmente con l'introduzione dello screening primario dell'HPV. La citologia rimane sempre la stessa, diventa tuttavia più 'challenging' e il livello di qualità che viene richiesto è sempre maggiore. Una sfida che rende la citologia cervico-vaginale ancora più interessante, più attrattiva".

Link articolo: https://bit.ly/2GA8rOz

Global Studio sas *Congressi, Conventions & Incentives*
Via G. Rossini, 6/8 – 20122 Milano (MI) - Italy
P. IVA/C.F.: 01371390996 - Numero REA: MI- 2061354
Tel. +39 02 23 003 2252/2253 - Fax +39 02 39 19 58 27
e-mail: segreteria@global-studio.it

CORTE FRANCA

IL CONVEGNO NAZIONALE DI CITOISTOLOGIA

Si svolgerà domani a Corte Franca il Convegno nazionale di citoistologia sul tema «Laboratorio e diagnosi, un legame indissolubile tra patologo e tecnico», ospitato dall'Auditorium di piazza Cattaneo. Circa duecento professionisti tra anatomopatologi, biologi e tecnici di laboratorio si confronteranno sulle metodologie di produzione dei referti diagnostici su esami citologici e istologici. Organizza l'Associazione italiana tecnici di istologia e citologia in collaborazione con la Fondazione Alessandra Bono.

Nuovo Bresciaoggi
VENERDÌ 4 OTTOBRE 2019 €1,20

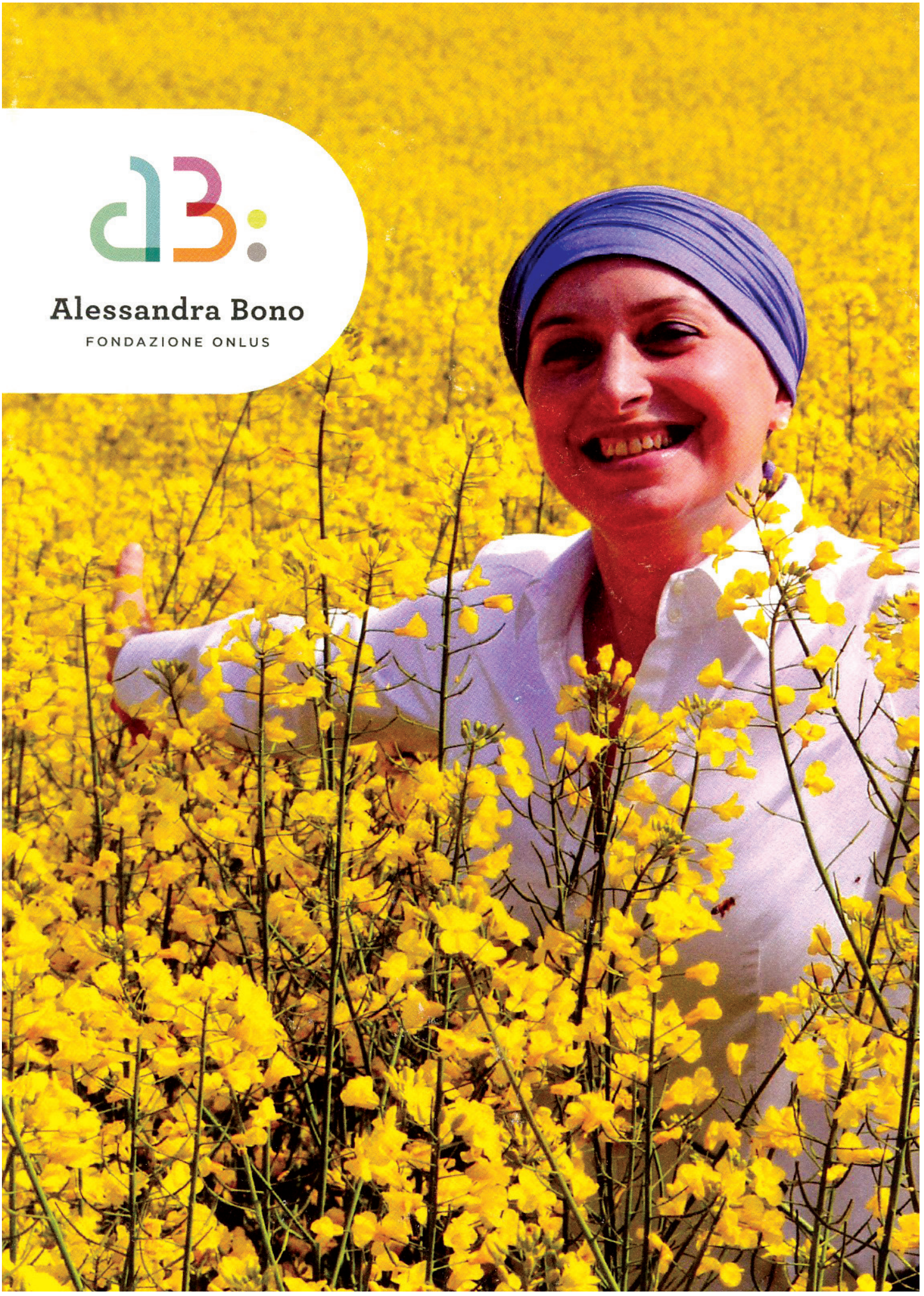
Siamo tutti in FIBRA
INTRED
TELECOMUNICAZIONI

5 Ottobre 2019
Moris Cadei
Milena Ministrini
AITIC
CITO-ISTOLOGIA IN FRANCIACORTA
Laboratorio e diagnosi
Un legame indissolubile tra Patologo e Tecnico
PROGRAMMA SCIENTIFICO

6 dicembre 2017
7 dicembre 2017
CITO-ISTOLOGIA IN FRANCIACORTA
5 Ottobre 2019

eresa Ragazzini
Moris Cadei
5 Ottobre 2019

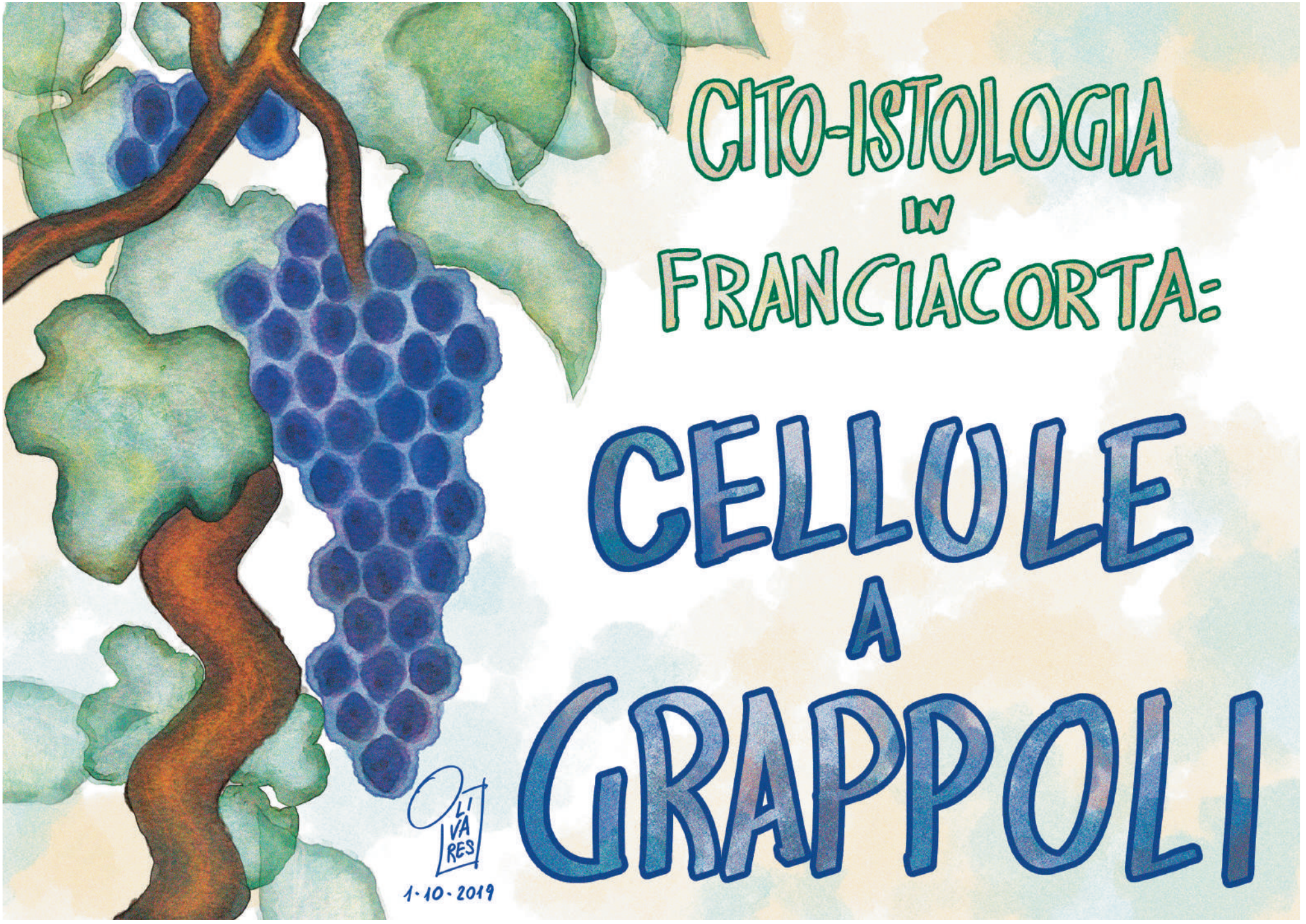
COMUNE DI CORTE FRANCA
Auditorium
1861 - Unità d'Italia
CITO-ISTOLOGIA IN FRANCIACORTA
5 Ottobre 2019


Alessandra Bono
FONDAZIONE ONLUS

Mi piace uno stato di continuo divenire,
con un obiettivo che è davanti e non dietro di me.
(George Bernard Shaw)

Un sentito ringraziamento a tutti quelli che hanno permesso la realizzazione di questo importante evento scientifico: Organizzatori, Relatori, Partecipanti, Aziende Sponsor, Istituzioni e Fondazioni.

Un personale ringraziamento alla Dr.ssa Annamaria Pisano ed a Global Studio che, fin dalla nascita di AITIC, coordina con grande professionalità e passione l'organizzazione degli eventi formativi.


CITO-ISTOLOGIA
IN
FRANCIACORTA:
CELLULE
A
GRAPPOLI
OLIVARES
1·10·2019

INIZIATIVA SCIENTIFICA PROMOSSA DA

AITIC ACADEMY

Alessandra Bono FONDAZIONE ONLUS

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA

Global Studio
Via G. Rossini, 6/8 – 20122 Milano
Tel. 02 23 003 2251 / 2254
congress@global-studio.it

GLOBAL STUDIO Congress & Incentives

PROVIDER ECM

MEDI K S.r.l.
Via Vincenzo Stefano Breda, 30 - 35010 Limena (PD)
Tel. 049 8170700 - Fax 049 2106351

MEDI K

CON IL CONTRIBUTO INCONDIZIONATO DI

Bio-Optica Improving Pathology

BD

DIAPATH

Leica BIOSYSTEMS

kaltek

www.aitic.it