

Guida: esame citologico

- **Tipi di prelievo**

Si esegue esame citologico su agoaspirati, agoinfissione, impronte e scarificati provenienti da noduli, masse e lesioni d'organo, al fine di verificare la natura della lesione, ovvero se sia di origine infiammatoria, degenerativa o neoplastica. Lo stesso tipo di analisi viene effettuato su liquidi provenienti da versamenti intracavitari, urine, liquido cefalorachidiano, liquido articolare. Non si eseguono conte cellulari in particolare su strisci ematici, nè analisi dei cristalli urinari o analisi fisico-chimiche dei liquidi.

- **Tempi e procedure**

L'esame viene eseguito su vetrini già preparati, preferibilmente non colorati. Se il campione è un liquido, si consiglia di inviarlo in provetta con edta a temperatura di refrigerazione (a temperatura ambiente se perviene al laboratorio entro le 8 h dal prelievo), ma soprattutto di eseguire, al momento del prelievo, dei vetrini di uno striscio tal quale e di uno striscio ottenuto prelevando una gocciolina di sedimento dopo aver centrifugato a 800-1000 giri max per 1-2 minuti, evitando di prelevare l'eventuale componente ematica. Si consideri che le cellule refrigerate e conservate in un liquido per più di 20-24 ore, subiscono alterazioni morfologiche che alterano o inficiano la lettura del preparato.

Liquidi delicati da inviare al laboratorio immediatamente dopo il prelievo: **liquido cerebrale**.

La lettura viene eseguita generalmente il primo giorno lavorativo dopo l'arrivo del campione in laboratorio.

Guida: esame istologico

- **Tipi di prelievo**

Biopsia in toto od escissionale: prelievo di tessuti comprendenti l'intera lesione. Questi campioni, se completamente inviati al **laboratorio**, permettono una valutazione completa ed approfondita e pertanto una maggior precisione diagnostica che include inoltre l'analisi dei margini della lesione e/o dei margini chirurgici. Per meglio identificare i margini chirurgici è consigliato segnalarli tramite l'apposizione di punti chirurgici o immergendo completamente il campione nell'inchiostro nero di china per qualche secondo dopo l'escissione, quindi conservare in formalina al 10%.

Biopsia parziale od incisionale: prelievo di tessuti comprendenti una porzione della lesione. Questi campioni permettono l'analisi di alcune aree della lesione, le quali pertanto potrebbero non essere rappresentative dell'intera lesione. L'analisi dei margini non può essere effettuata. La biopsia incisionale è utile per la scelta del tipo di intervento successivo, farmacologico o chirurgico.

- **biopsie cutanee**

Guida: biopsie cutanee

Si devono biopsare le *lesioni primarie e recenti* (entro 2-3 settimane dalla comparsa), onde evitare di campionare lesioni secondarie, quali autotraumatismi o sovrainfezioni, che possono mascherare la patologia scatenante sottostante, o lesioni croniche e pertanto aspecifiche.

Lesioni di *piccole dimensioni* dovrebbero essere prelevate completamente (es.: punch cutaneo con tru cut). Se la lesione è di *dimensioni maggiori*, allora è possibile eseguire una biopsia incisionale a losanga che comprenda cute lesa da un lato e cute sana dall'altro. In questo caso il patologo effettuerà una sezione longitudinale del campione che comprende le due aree e nello stesso tempo ne visualizza l'intera stratigrafia.

E' necessario un *campionamento adeguato* poichè, specialmente in corso di dermatopatie generalizzate o in caso di lesioni multiple, una sola biopsia potrebbe non essere rappresentativa della patologia in atto e quindi non diagnostica. E' consigliato prelevare almeno **3** lesioni ed **1** campione di cute sana.

In caso di una *lesione ulcerativa solitaria* si deve fare un prelievo dell'ulcera.

In caso di *lesioni ulcerative progressive multifocali o generalizzate* si deve campionare l'area strettamente adiacente all'ulcera.

In caso di *lesioni bollose* si deve biopsare la bolla.

In caso di *lesioni alopeciche* si devono campionare le aree con maggior perdita di pelo. Sono essenziali, in questo caso, prelievi multipli.

Cosa non biopsare:

- lesioni da autotraumatismo
- lesioni croniche
- lesioni infette secondarie

Procedure di prelievo:

- utilizzare un kit da biopsia sterile
- sedazione o anestesia locale (1-2 ml di lidocaina 2% SC) se necessarie
- tagliare il pelo con forbici per evitare traumatismi
- non pulire, non togliere eventuali croste, non disinfettare prima del prelievo
- dopo il prelievo appoggiare i campioni su pezzetti di cartoncino dal lato del sottocute ed identificarli
- conservare in formalina al 4-10% in contenitori separati o marcando i campioni con nodi chirurgici o tramite i cartoncini di sostegno
- i campioni vanno identificati per specificare la sede di provenienza del prelievo (es: dorso, ascella, addome) dal momento che la cute presenta caratteristiche diverse in queste sedi, che devono essere considerate nel processo di valutazione diagnostica

- **Conservazione dei campioni**

I campioni vanno fissati in formalina tamponata al 10% (commercialmente formaldeide al 4% neutra, tamponata con fosfati 0,05 M). Il volume della formalina deve essere 10 volte quello del campione. Per campioni di grandi dimensioni (>2 cm diametro) si richiede di effettuare dei tagli incompleti che giungano al centro del campione e che non interessino i margini profondi o laterali, evitando quindi di creare soluzioni di continuo a livello della capsula o dei margini, sedi importanti per la valutazione dell'eventuale infiltrazione cellulare.

Si richiede l'utilizzo di contenitori di plastica a tenuta stagna, onde evitare l'uscita della formalina durante il viaggio; eventualmente è possibile avvolgere il contenitore con parafilm. Se spediti per posta, è preferibile imballarli. Contenitori che perdono formalina non vengono consegnati dalle poste e creano problemi all'accettazione.

Dal momento che, dopo fissazione in formalina, i tessuti molli acquistano nuova consistenza e volume, è necessario che il diametro del contenitore e del relativo foro di entrata siano superiori a quello del campione non ancora fissato. Per campioni di grandi dimensioni è possibile eseguirne una suddivisione in pezzi più piccoli. È comunque sempre consigliabile inviare tutta la lesione da esaminare.

- **ATTENZIONE:** non inviare contestualmente campioni per citologici ed istologici, se non ben imballati in contenitori di plastica sigillati, perché i vapori di formalina contaminano i citologici non colorati.

Tempi e procedura

I campioni, una volta arrivati al **laboratorio**, vengono ridotti per essere processati, i pezzi vengono successivamente tagliati e colorati. La fase di lavorazione ha una durata minima di 2-3 giorni e richiede tempi più lunghi se il campione necessita colorazioni istochimiche specifiche o di essere decalcificato.

Esame immunoistochimico - analisi proposte

1 anticorpo

Anticorpi disponibili: cellule linfoidi – CD3, CD5, CD79, CD20 cellule istiocitarie e APCs – MHCII HLA-DR, CD18 filamenti e altri marcatori di differenziazione cellulare – NSE, NF, GFAP, S100, vimentina, panCK, CK basali e lumentali (varie), calponina, actina, desmina, mioglobina, VWF (fatt. VIII), cromogranina recettori ormonali – ER alfa e beta, PR; oncogeni e geni oncosoppressori – HER2, p53 marcatori di proliferazione cellulare – Ki67; C-kit

Pannello per neoplasie linfoidi (CD3, CD5, CD79, CD20)

Pannello per neoplasia epiteliale vs. mesenchimale (CK, VIM)

Pannello per GIST