



Chiara Chioda –UOC di Anatomia Patologica ASST della Franciacorta
Direttore Dott. Stefano Negri
chiara.chioda@asst-franciacorta.it

IL PROCESSO DI ALLESTIMENTO DEL CAMPIONE CITOLOGICO NEL CONTESTO DEL LABORATORIO DI ANATOMIA PATOLOGICA

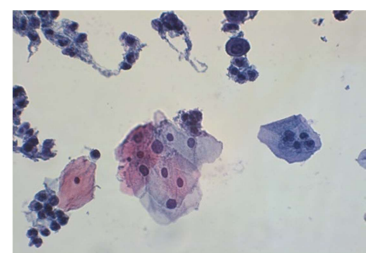
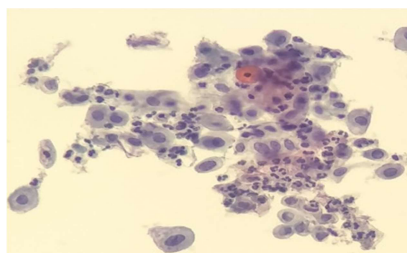
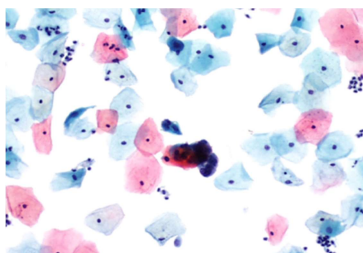
La Citologia (studio della cellula) è da sempre una parte fondamentale dell'Anatomia Patologica ed è applicata a tutti quei campioni che presentano cellule per lo più singole o in piccoli aggregati ma che non possiedono l'architettura tissutale tipica del campione istologico.

I campioni citologici sono ottenuti mediante esfoliazione spontanea (urine, espettorati, liquor, liquidi da versamento o da lavaggio), mediante esfoliazione provocata (brushing e scraping) e mediante agoaspirazione (possono essere costituiti da liquido di "svuotamento" o da materiale prelevato da masse solide).

La citologia presenta alcuni indiscutibili vantaggi quali la facilità di reperimento dei campioni e la minor invasività delle procedure di prelievo, ripetibilità dell'esame, possibilità di dare risposte e quindi orientare le scelte del clinico in tempi più brevi rispetto all'esame istologico. Per la citologia tradizionale a questi vantaggi si aggiunge quello economico: il costo di allestimento dei preparati è molto contenuto.

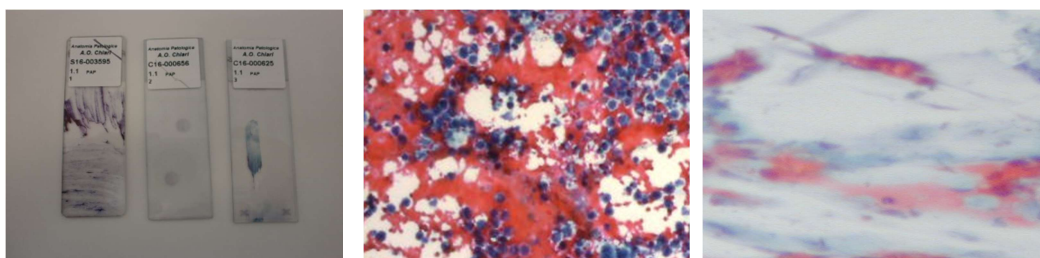
Affinché questa tecnica possa esprimersi al meglio dobbiamo ottenere un buon preparato che deve possedere le seguenti caratteristiche:

- Deve avere un'adeguata cellularità
- Deve essere correttamente allestito, fissato e colorato
- Non deve essere oscurato



Purtroppo la citologia “tradizionale”, quella che si avvale di metodiche quali lo striscio e la citocentrifugazione per l’allestimento dei preparati, presenta dei limiti che possono rendere molto difficoltoso, se non impossibile, formulare una diagnosi :

- L’allestimento dei preparati è operatore dipendente (problemi di prelievo, di allestimento dello striscio, ritardi di fissazione,...) con conseguenti campioni inadeguati per un giudizio diagnostico
- Il numero di vetrini è limitato e quindi per poter eseguire approfondimenti diagnostici devo o “decolorare i preparati” o effettuare un nuovo prelievo al paziente (non è sempre possibile)
- Nel caso di campioni liquidi i vetrini allestiti non sempre presentano la medesima cellularità

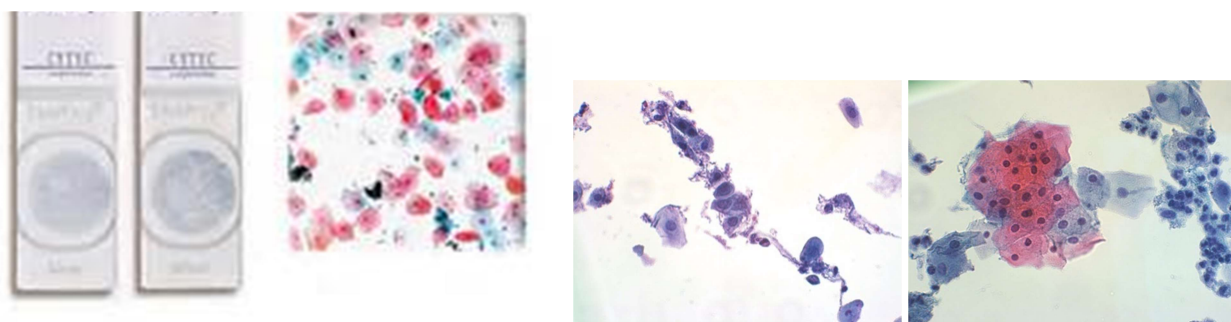


Oggi, per superare questi limiti, abbiamo a disposizione la Citologia in Fase Liquida (LBC).

Con questa tecnica qualsiasi campione (liquido, brushing o agoaspirato) viene immediatamente fissato in un apposito liquido conservante/fissativo, eliminando così tutti i problemi legati allo striscio e ai ritardi di fissazione, ed inoltre viene raccolto gran parte del materiale cellulare che è stato prelevato. I fissativi per fase liquida possono contenere o essere addizionati con soluzioni mucolitiche ed emolizzanti che permettono di ridurre tutte le problematiche legate all’oscuramento o alla sovrapposizione cellulare consentendoci di avere un preparato migliore. Il campione viene posto in un apposita apparecchiatura dove tramite un sistema di mescolamento, adesione su filtro e trasferimento su vetrino vengono allestiti preparati in monostrato cellulare.

Con la Citologia in Fase Liquida (LBC):

- Il preparato allestito è statisticamente rappresentativo di tutto il campione prelevato e si possono allestire più vetrini.
- E’ un metodo standardizzato, non operatore dipendente.
- Consente l’allestimento di un vetrino con un numero ottimale di cellule, non “disturbato” da elementi oscuranti e/o sovrapposizioni cellulari.
- Il campione conservato con il liquido fissativo è idoneo per essere sottoposto a immunocitochimica, biologia molecolare, fish, ecc.
- L’area del vetrino da visionare al microscopio è circoscritta.



Tra gli svantaggi di questa metodica vi è il costo superiore sia in termini economici sia in termini di impegno lavorativo da parte del personale tecnico nella fase di allestimento.

ALLESTIMENTO DEL CAMPIONE CITOLOGICO NEL LABORATORIO DI ANATOMIA PATOLOGICA DELL'ASST DELLA FRANCIACORTA

La LBC è stata introdotta nel nostro laboratorio al fine di migliorare la qualità dei preparati e di poter effettuare indagini aggiuntive, cercando così di superare i limiti “naturali” delle tecniche di citologia “tradizionale”. Per l'allestimento della citologia in fase liquida viene da noi utilizzato lo strumento Thin Prep il quale mescola il campione, fa aderire le cellule al filtro e le trasferisce su vetrino ottenendo così preparati in monostrato cellulare. Questa metodica prevede l'utilizzo di fissativi, filtri e protocolli differenziati per la citologia vaginale ed extravaginale.

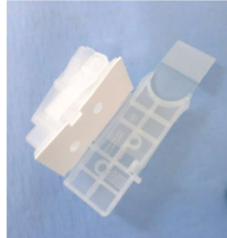
Il passaggio a questa tecnica è stato graduale e frutto di alcune scelte che hanno tenuto conto del volume e della tipologia di campioni afferenti al laboratorio, dell'esperienza e delle abitudini dei clinici, dei patologi e dei tecnici di laboratorio, e da queste è derivata l'applicazione dei protocolli più vantaggiosi sia ai fini diagnostici sia nell'ottica del contenimento dei costi.

I Pap Test, la citologia urinaria e i liquidi (da versamento o da lavaggio), che rappresentano il 90% dei nostri campioni citologici, vengono allestiti tutti in LBC. Per i Pap test l'introduzione della LBC ha portato ad una notevole riduzione dei casi inadeguati e al miglioramento delle condizioni di lettura (preparati qualitativamente migliori e minor area del vetrino da visionare). Per la citologia urinaria la cellularità presente sul vetrino ottenuto in LBC è sicuramente più rappresentativa rispetto alla citologia tradizionale; in questo ambito si è scelto di applicare la metodica del “campione unificato” (dai tre campioni di urine raccolte si allestisce un solo vetrino): questo metodo ci permette di contenere i costi anche se è un po' più laborioso dal punto di vista tecnico.

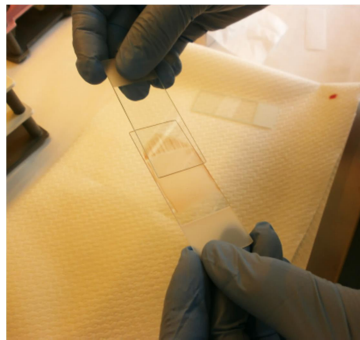
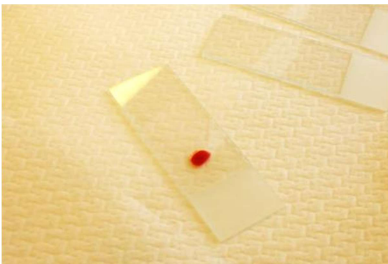


Per i campioni dell'apparato respiratorio si è preferito mantenere le metodiche già in essere: gli espettorati vengono raccolti in alcol a 70° e inviati subito al laboratorio di istologia dove, dopo l'aggiunta del fissativo Dubosq–Brazil, vengono trattati come campioni istologici; per i broncoaspirati e i broncolavaggi è previsto l'allestimento di due vetrini con metodica di citocentrifugazione e poi seguono il percorso istologico degli espettorati.

Per il liquor, considerate le esigue quantità di materiale inviato e la scarsa cellularità, si è preferito mantenere la metodica dell'allestimento di vetrini tramite citocentrifugazione: il numero di vetrini allestiti varia a seconda delle quantità del campione (solitamente 2 o 3) che viene completamente esaurito.



Per agoaspirati e brushing viene lasciata al clinico, talvolta in accordo con l'anatomopatologo, la libertà di applicare la metodica tradizionale (striscio) o la citologia in fase liquida.



In conclusione l'introduzione della citologia in fase liquida nella nostra realtà, nonostante l'aumento dei costi, si è dimostrato uno strumento utile al miglioramento della qualità dei preparati citologici.