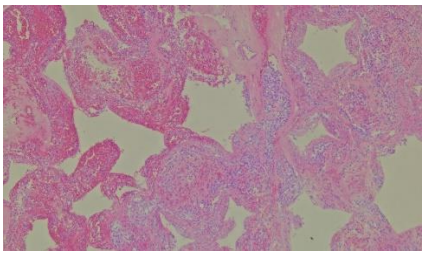
UN NUOVO METODO PERFORMANTE PER L'ALLESTIMENTO DEI CITOINCLUSI - CYTOPATH®

Dott. Stefano Laudati, Dott. Gerardo Liberti, Dott. Antonio Buono, Dott.ssa Federica Del Giudice, Dott.ssa Sara Pignatiello, Dott.ssa Eugenia Poli, Dott. Dario Tuccillo, Dott.ssa Mariarosaria Verre, Dott.ssa Francesca Liccardi, Dott. Diego Gerbasio, Dott.ssa Maria Luisa D'Aponte, Dott. Alfredo D'Avino, Dott. Antonio D'Antonio

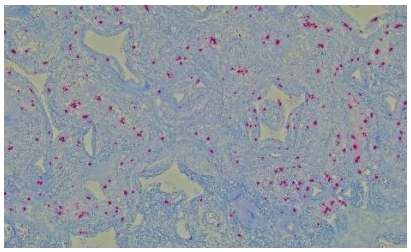
INTRODUZIONE: L'esame citologico permette di valutare gli aspetti morfologici delle cellule di un campione biologico. Le informazioni ottenute con l'esame citologico potrebbero essere parziali o orientative: per questo motivo potrebbe essere necessario approfondire le indagini con l'esame istologico. Con la necessità di indagare i tumori dal punto di vista molecolare è fondamentale poter applicare tecniche di Real Time Pcr e di Next Generation Sequencing sui citoinclusi. La metodica che prevede l'impiego di un pool di plasma e di tromboplastina per consentire la formazione di un coagulo che contenga cellule tumorali è da considerarsi obsoleta e non più sicura. E' diventato indispensabile l'utilizzo di un supporto inerte che non dia problemi con l'estrazione degli acidi nucleici e i successivi saggi. Il CytoPath prevede una matrice inattiva che permette di allestire degli ottimi citoinclusi che non pregiudicano le indagini di biologia molecolare.

***OBIETTIVI*:** L'obiettivo principale è quello di ricavare dal citoincluso non solo delle sezioni di Ematossilina –Eosina e sezioni per immunocitochimica ma anche dei campionamenti per effettuare indagini molecolare per l'identificazione di mutazioni di interesse diagnostico-terapeutico

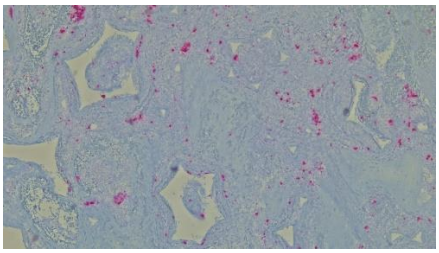
Metodi: L'esigenza di ottimizzare le quantità di materiale citologico inviato alla UOC di Anatomia Patologica ha indotto l'equipe a standardizzare una metodica che permettesse la raccolta della maggior parte delle cellule presenti nei liquidi biologici e che una volta incluse in paraffina potesse uguagliare i risultati e la resa ottenuta da materiale istologico. Il Dispositivo IVD CytoPath consente l'assorbimento del pellet citologico, inserendolo direttamente in una provetta falcon e centrifugato a 3200 RPM - 2061 RCF per 10 minuti. Terminato il processo di centrifugazione si rimuove il dispositivo CytoPath e viene inserito in una biocassetta in cui preventivamente è stata inserita una coppia di spugnette per minimizzare la perdita di materiale cellulare nelle fasi successive. Si fissa in formalina tamponata 10% v/v – 4% p/v per circa 2 ore, in quanto anche in questo caso una inadeguata fissazione potrebbe rendere difficile il taglio delle sezioni e/o la qualità dell'immunoistochimica e/o una ipotetica estrazione di acidi nucleici. Si procede allo step della processazione mediante processatore istologico, avviando un protocollo di routine. Terminato il ciclo di processazione si estrae il CytoPath e si include orientando il dispositivo in modo da rivolgere la parte più cellulata verso la base della mold, dopo di che si procede con la fase del taglio al microtomo, colorazione e montaggio o si procede con altra metodica prevista.



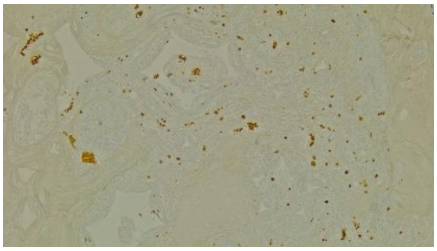
Liquido pleurico - EE



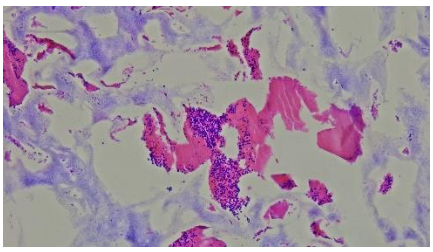
Liquido pleurico – CK 5/6 (+)



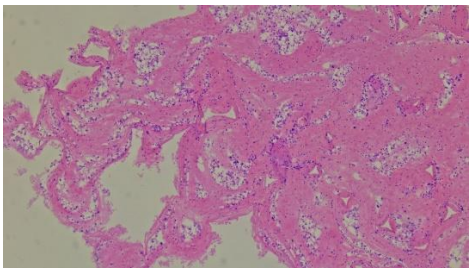
Liquido pleurico – CK 7 (+)



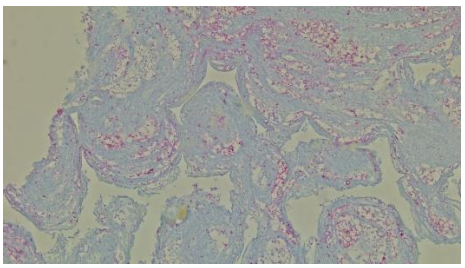
Liquido pleurico – Calretinina (+)



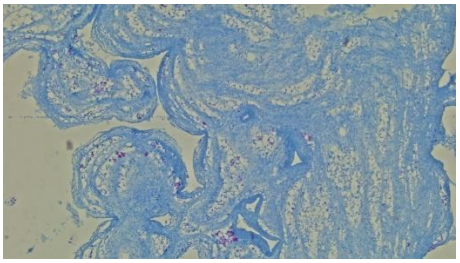
Liquido pleurico - EE



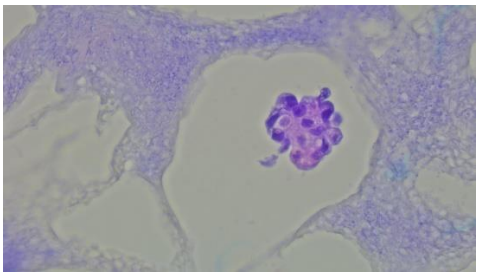
Liquido peritoneale - EE



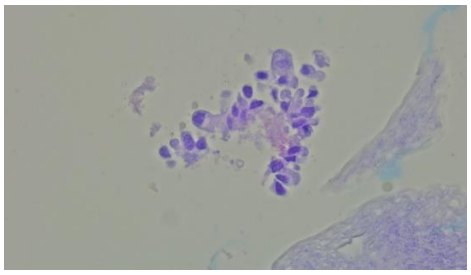
Liquido peritoneale – MOC31



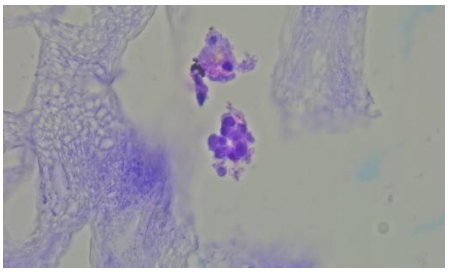
Liquido peritoneale – PAX8



FNC Linfonodo – EE



FNC Linfonodo – EE



FNC Linfonodo – EE

MATERIALE INVIATO: FNC LINFONODI III LIVELLO DESTRO
MACROSCOPIA: Esame citologico su campione allestito con citoinclusione per determinazione molecolare dello stato mutazionale di BRAF DIAGNOSI: Su un fondo di materiale amorfo si osservano linfociti e alcune strutture epiteliali papillari compatibili con la pregressa diagnosi di carcinoma papillifero della tiroide. Mutazioni analizzate: BRAF V600E/ E2/D e BRAF V600 K/R/M Esone 15.
RISULTATO: GENE BRAF V600E/D esone 15: MUTATO (vedi protocollo B 342-2023)

Conclusioni: I vantaggi della metodica che utilizza CytoPath per allestire i citoinclusi sono evidenziati dalla elevata disponibilità di materiale per poter effettuare ulteriori indagini sia di IHC, ISH e/o di biologia molecolare. Per cui tale metodica potrebbe essere, se standardizzata, una oggettiva risorsa per l'anatomo-patologo che riuscirebbe ad effettuare una diagnosi completa anche già dal materiale citologico.