



Associazione Italiana Tecnici Istologia Citologia

CON IL PATROCINIO DI



# XXXII CONGRESSO NAZIONALE

## IN TECNICHE DI LABORATORIO BIOMEDICO

L'evento scientifico  
di riferimento  
per le novità in  
Anatomia Patologica

**29 | 31 OTTOBRE 2025**

PALARICCIONE - PALAZZO DEI CONGRESSI - RICCIONE

**LUDOVICA STANCO**

Università degli Studi di Roma "La Sapienza" –  
Ospedale Sant'Andrea, Roma (Italia)



**Utilizzo della piattaforma Idylla nello studio delle alterazioni molecolari in versamenti pleurici maligni di pazienti con adenocarcinoma del polmone non a piccole cellule (NSCLC).**

**Confronto con le metodiche di analisi convenzionali: Real-Time PCR e NGS.**

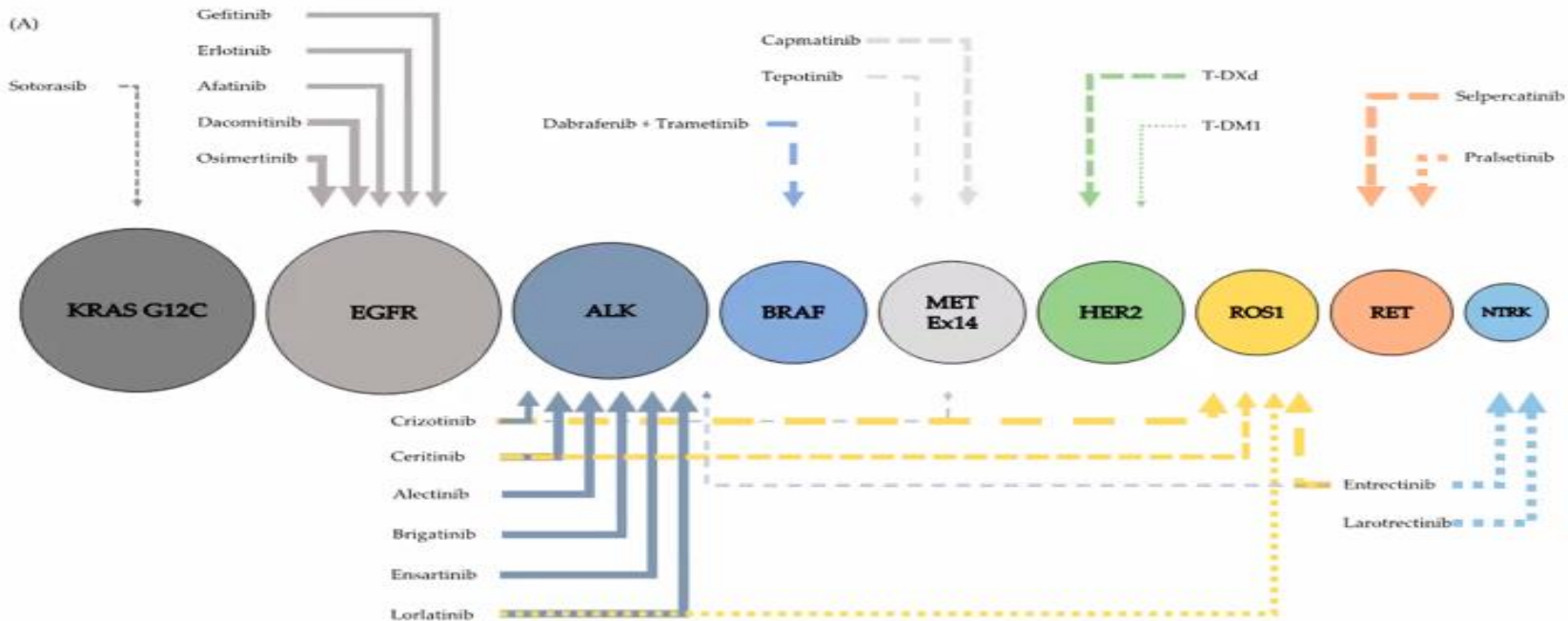
Relatrice: Prof.ssa  
**Stefania Scarpino**

Corso di laurea in  
Tecniche di Laboratorio  
Biomedico, U.O.C. di  
Anatomia Patologica,  
Ospedale Sant'Andrea,  
Roma (Italia)  
A.A. 2023-2024



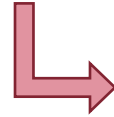
# L'ADENOCARCINOMA DEL POLMONE

40-50% degli NSCLC

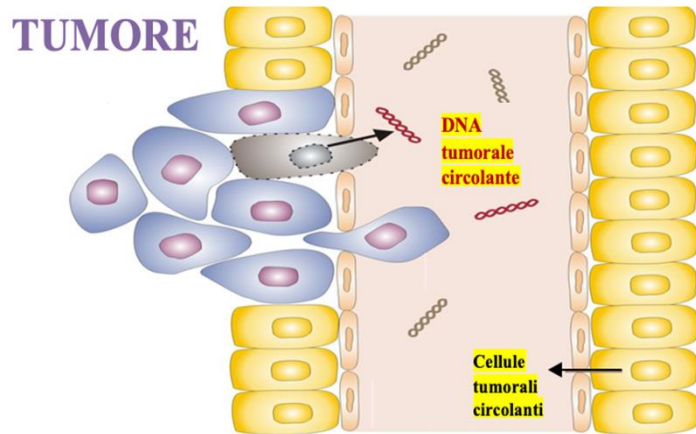
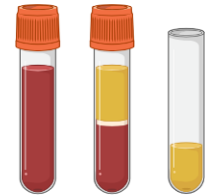


Il mio tumore

Le indagini per la caratterizzazione molecolare si effettuano, di routine, su tessuti fissati in formalina ed inclusi in paraffina; oppure sul plasma (**biopsia liquida**).



cellule, proteine, DNA/RNA

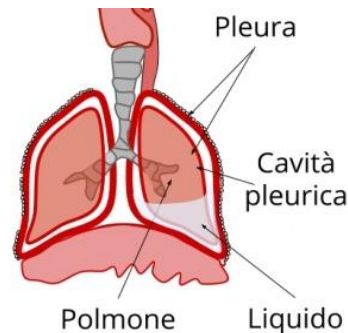


Meccanismi per il rilascio del materiale tumorale in circolo:

- Secrezione;
- Apoptosi;
- Necrosi.

## Fluidi corporei:

- sangue,
- urina,
- saliva,
- liquido cerebrospinale,
- versamenti pleurici**



Con l'esame citologico si ottiene una diagnosi della natura del versamento.

60-70% sono secondari a polmoniti o **neoplasie**

La letteratura individua il versamento come materiale ricco di informazioni studiabili.

**MA**

è ancora difficile l'identificazione delle mutazioni sull'RNA a causa della sua natura instabile.

**Come possiamo implementare lo studio delle varianti sull'RNA?**

## Scopo dello studio

1. Verificare la possibilità di utilizzare sull'MPE il test Idylla™ GeneFusion Panel, (test per l'analisi dei tessuti che identifica le fusioni di **ALK**, **ROS1**, **RET** e lo skipping dell'esone 14 di **MET**). I risultati ottenuti sono stati confrontati con le metodiche convenzionali (Real-Time PCR e NGS).



Idylla



Real Time PCR-  
BIORAD



NGS- Ion Torrent

2. Identificare il percorso migliore della fase preanalitica finalizzata all'isolamento del DNA/RNA tumorale circolante dall'MPE.

- Fusioni di **ALK, ROS1, RET**
- Skipping dell'esone 14 di **MET**

approx.  
**180min**  
sample-to-result

< 2min  
hands-on time

ALK,  
ROS1, RET &  
MET EXON 14 SKIPPING



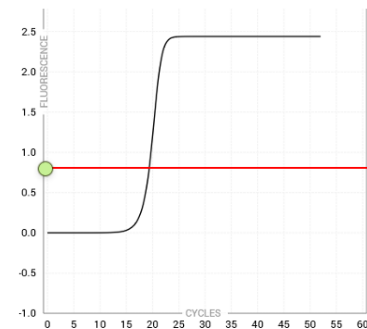
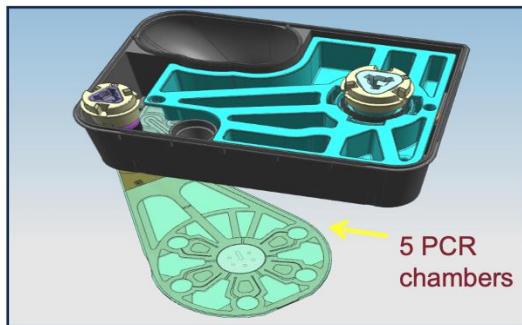
Caricamento  
del  
campione

Lisi  
cellulare

estrazione di  
DNA/RNA

Amplificazione  
e  
rilevamento

Analisi  
dei dati

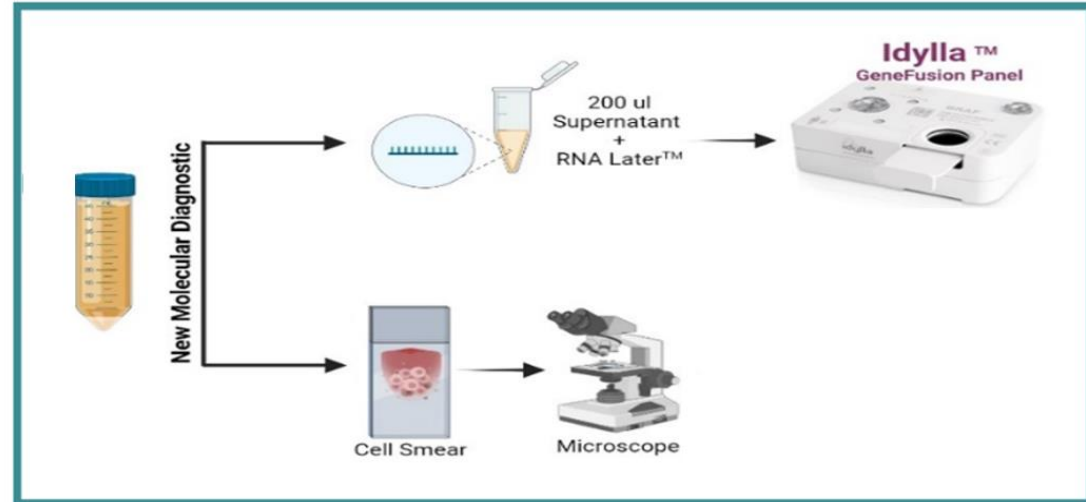


## Analisi degli MPE con il test Idylla™ GeneFusion Panel:

9 pazienti con ADK del polmone,  
positivi alle fusioni di **ALK**, **ROS1**,

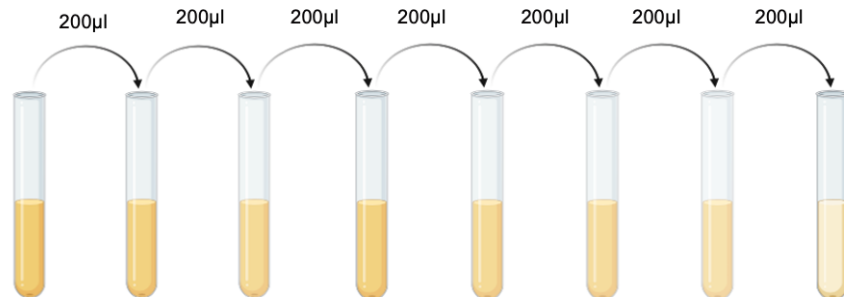
**RET** o allo skipping dell'esone 14 di

**MET** sul tessuto e con disponibilità del  
versamento pleurico.



Caso n.	Sesso/ Età	Tissue istological	Alerazione dei tessuti in Real-Time PCR/NGS	MPE % cellule tumorali	MPE/cfRNA Conc. (ng/μl)	MPE/cfRNA RealTime- PCR/NGS	MPE/Idylla	Idylla Cytological Smear
1	M/54	ADK	ALK+	7%	8	ALK+	ALK+	ALK+
2	M/85	ADK	RET+	96%	99	RET+	RET+	RET+
3	M/63	ADK	ALK+	5%	38	ALK+	ALK+	ALK+
4	M/64	ADK	ALK+	60%	10,4	ALK+	ALK+	ALK+
5	F/64	ADK	ALK+	60%	17	ALK+	ALK+	ALK+
6	M/64	ADK	ALK+	50%	89	ALK+	ALK+	ALK+
7	F/70	ADK	ROS1+	50%	11,2	ROS1+	ROS1+	N.A.
8	M/65	ADK	Salto MET+	NA	NA	Salto MET+	Salto MET+	N.A.
9	F/76	ADK	RET+	88%	65	RET+	RET+	N.A.

## Identificazione della sensibilità di Idylla:

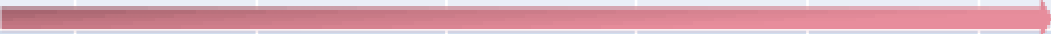



Sono state effettuate diluizioni seriali (A-H) dell'MPE.

Sono stati caricati nella cartuccia Idylla™ 200µl di ciascuno punto di diluizione.



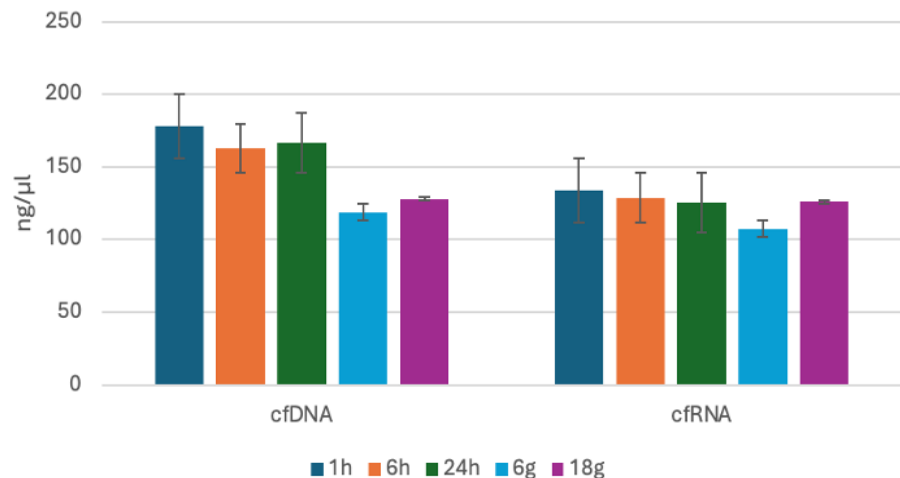
MPE del caso n.9	Dil.A	Dil.B	Dil.C	Dil.D	Dil.D	Dil.E	Dil.G	Dil.H
cfRNA ng/200µl	250ng	175ng	139,5ng	105,3ng	65,7ng	30,2ng	18ng	8ng
Cq RET	RET+ 26.3	RET+ 26.5	RET+ 31.1	RET+ 31.5	RET+ 32.1	RET+ 33.5	RET+ 35.4	RET- ND
Cellule/mL	39x10 <sup>4</sup>	33x10 <sup>4</sup>	17x10 <sup>4</sup>	10x10 <sup>4</sup>	5x10 <sup>4</sup>	3x10 <sup>4</sup>	1x10 <sup>4</sup>	ND
% Cellule	88%	74%	38%	22%	11%	6%	2%	ND

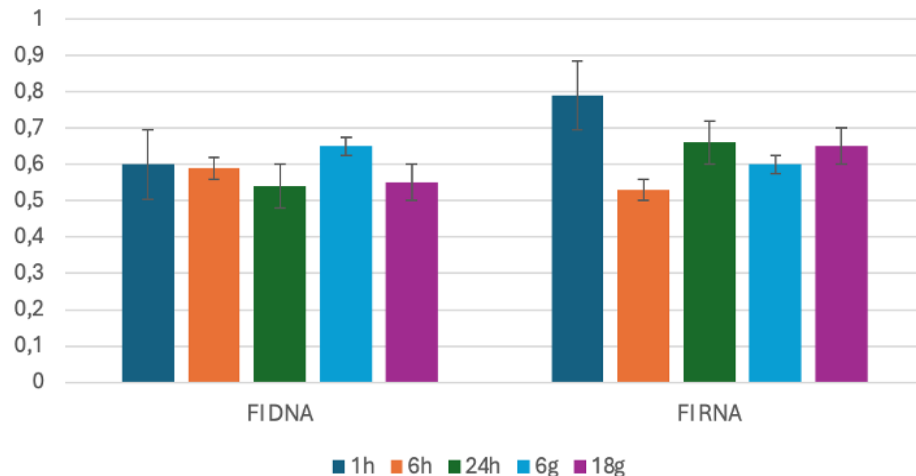


Le quantità di acidi nucleici estratti dal materiale di 10 pazienti non è influenzata dall'aumentare del tempo di congelamento.

Media concentrazioni al NanoDrop



media degli indici di frammentazione (FI)



## CONCLUSIONI (1)

- Il nostro è il primo studio che dimostra l'efficacia dell' **Idylla™ GeneFusion Panel** nell'identificare trascritti di fusioni in campioni di versamenti pleurici di pazienti con NSCLC.
- L'utilizzo di un sistema che non prevede l'estrazione del cfRNA, rappresenta un vantaggio in termini di lavoro, tempo di diagnosi e costi.
- Il rilevamento delle fusioni è possibile in campioni con almeno una percentuale di cellule tumorali presenti nello striscio citologico del versamento **>2%** e una quantità di cfRNA **>8ng**.

## CONCLUSIONI (2)

- Il versamento pleurico è un campione molto più stabile e "robusto" rispetto al plasma.
- È possibile conservare campioni di versamento pleurico anche fino a tre settimane a 4°C senza perdere la possibilità di estrarre acidi nucleici (cfDNA-cfRNA) e poter identificare le alterazioni molecolari attese.
- L'utilizzo di un campione che non prevede particolari attenzioni di conservazione, rappresenta un vantaggio per il trasporto da altri centri che necessitano indagini molecolari.

**GRAZIE PER  
L'ATTENZIONE!**

