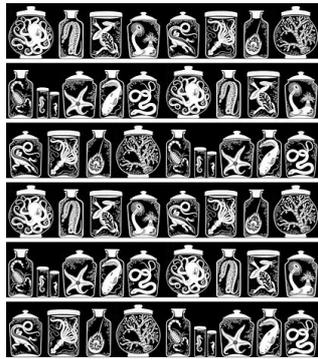


# Corso di Anatomia Patologica

16 Marzo 2016

## Cosa dovete sapere riguardo a questo corso....



- Docenti:
  - Prof.ssa Bussani
  - Prof. Zanconati (Coordinatore)
- È un corso suddiviso in due semestri che si concluderà con una prima sessione di esame nel febbraio 2017
- Durante il corso per stimolare lo studio verranno proposte delle verifiche di apprendimento «in itinere» in varie modalità...

**Ovviamente c'è l'obbligo della frequenza!**

## Cosa dovete sapere riguardo a questo corso.... Come si svolge l'esame



L'esame è composto da :

- Svolgimento durante l'anno di eventuali prove scritte
- Prova pratica a fine corso in sala autoptica con la prof.ssa Bussani
- Esame orale con la prof.ssa Bussani
- Test a crocette che permette di accedere all'esame orale con il prof. Zanconati
- Prova pratica con un preparato microscopico già discusso nel corso delle lezioni
- Esame orale con il prof. Zanconati

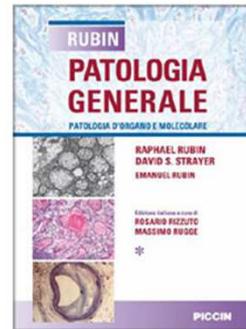
## Lamentele e comunicazioni

- Prof. Zanconati
  - [fabrizio.zanconati@aots.sanita.fvg.it](mailto:fabrizio.zanconati@aots.sanita.fvg.it)
  - [mauriziopinamonti@hotmail.it](mailto:mauriziopinamonti@hotmail.it)
  - [deb.bon@libero.it](mailto:deb.bon@libero.it)
- Prof.ssa Bussani
  - [bussani@univ.trieste.it](mailto:bussani@univ.trieste.it)



## Libri di testo

- E. Rubin, **Patologia, fondamenti clinicopatologici in medicina** (PICCIN) edizione italiana 2014
- R. S. Cotran, V. Kumar, S. L. Robbins: **Le basi patologiche delle malattie** (Piccin)
- G.M. Mariuzzi: **Anatomia Patologica e correlazioni anatomiche** (Piccin)
- F. J. Pardo Mindan **Anatomia patologica** (EMSI)
- Woolf **Anatomia Patologica** (EDISES)



## Programma del corso....



...nelle prossime slide....

## PROGRAMMA DEL CORSO INTEGRATO DI ANATOMIA PATOLOGICA 1 e 2

Il C.I. di Anatomia Patologica è collocato al secondo semestre del III anno ed al primo semestre del IV anno del Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia.

Il superamento dell'esame finale comporta l'acquisizione di 10 CFU e 3 CFU di Tirocinio.

Il Programma è articolato in una parte generale, in cui vengono acquisite le metodiche anatomico-istocitopatologiche ed i loro principali campi di applicazione e le indicazioni al loro utilizzo, ed in una parte sistematica in cui vengono studiati gli aspetti anatomopatologici relativi agli apparati respiratorio, digerente, urinario, genitale femminile, ematopoietico, cardiovascolare, tegumentario, endocrino, genitale maschile e nervoso.

## Obiettivi del Corso

Il Corso di Anatomia Patologica costituisce un punto di raccordo tra le discipline di base (anatomia, fisiologia, microbiologia e patologia generale) e gli insegnamenti clinici (di interesse diagnostico-laboratoristico, medico, chirurgico e specialistico).

L'obiettivo primario è di acquisire un'adeguata conoscenza del substrato anatomico delle singole patologie, correlando le manifestazioni cliniche alle alterazioni morfologiche.

Pertanto, al termine del Corso, lo studente dovrebbe essere in grado di:

- conoscere in maniera sistematica i quadri patologici previsti dal programma, con particolare approfondimento delle patologie di più frequente riscontro e dei casi paradigmatici
- correlare determinati quadri patologici con le modificazioni che si realizzano secondariamente in altri organi e apparati e con gli altri strumenti della diagnostica strumentale e con i reperti della semeiotica clinica tradizionale
- conoscere gli strumenti della diagnostica cito-istologica utili per una corretta definizione e/o stadiazione delle lesioni
- saper descrivere e riconoscere al microscopio i principali aspetti morfologici che caratterizzano le lesioni neoplastiche e non di più frequente riscontro
- saper prescrivere correttamente gli esami da richiedere al patologo e le modalità di corretto invio del materiale da analizzare
- saper comprendere il significato del referto per poterlo utilizzare al meglio nel management del paziente

## Docenti

Prof. Fabrizio Zanconati

## Sede delle lezioni

Aule del complesso didattico del Polo di Cattinara

## PROGRAMMA DEL CORSO

## Parte propedeutica

## 1) Tecniche di istopatologia e citodiagnostica

- Generalità di tecnica delle autopsie
- Fissazione dei tessuti
- Processazione routinaria dei tessuti
- Campionamento istologico del materiale chirurgico
- L'esame estemporaneo intraoperatorio
- Colorazioni routinarie in istopatologia
- Tecniche citologiche di prelievo

## 2) Generalità sulle neoplasie

- Neoplasie epiteliali benigne
- Neoplasie epiteliali maligne
- Neoplasie connettivali benigne e maligne
- Tumori di origine dalle cellule totipotenti
- Criteri di differenziazione tra neoplasie benigne e maligne
- Valutazione della differenziazione delle neoplasie maligne
- Stadiazione anatomo-patologica dei tumori maligni
- Stadiazione biologica dei tumori maligni
- Lesioni preneoplastiche

## Parte sistematica

## A) apparato respiratorio

- Polmone
- Atelettasia e collasso
- Edema, embolia ed infarto polmonare
- Iperinflazione polmonare
- Malattie croniche ostruttive: enfisema, bronchite cronica, asma, bronchiectasie
- Fogosi polmonari: polmonite lobare, broncopolmonite, polmonite interstiziale, tubercolosi, sarcoidosi
- Pneumococcosi e flogosi polmonare
- Neoplasie benigne e maligne del polmone (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione, fattori predittivi di risposta alle terapie)
- Pleura: patologia flogistica e versamenti
- Mesotelioma pleurico (epidemiologia, patogenesi, aspetti morfologici macro e microscopici)

## B) Apparato gastroenterico

- Esofago: esofagiti, neoplasie benigne e maligne (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)
- Stomaco: gastriti, erosioni gastriche, ulcera peptica, neoplasie benigne e maligne (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)
- Piccolo e grosso intestino e canale anale: malattia ischemica intestinale; enterocoliti infettive, patologia infiammatoria intestinale, malattia diverticolare, polipi e poliposi, neoplasie benigne e maligne (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione, fattori predittivi di risposta alle terapie a bersaglio molecolare)
- Peritoneo: flogosi acute, versamenti, neoplasie maligne
- Appendice: flogosi acute e croniche, neoplasie maligne

## C) Fegato

- Alterazioni circolatorie: ostacolato afflusso venoso, arterioso e sinusoidale, ostacolato deflusso, ipertensione portale e cirrosi collaterali
- Lesioni epatiche elementari, necrosi epatocitarie e fibrosi epatica
- Epatiti acute e croniche: quadri macroscopici ed istologici
- Epatite alcolica, steatosi, steato-epatite e cirrosi epatica
- Colestasi e cirrosi biliare primitiva
- Neoplasie benigne e maligne del fegato (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)

## D) Vie biliari

- Colelitiasi e colecistiti
- Neoplasie della colecisti e della via biliare principale (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)

## E) Pancreas esocrino

- Pancreatite acuta e cronica, cisti e pseudocisti
- Tumori benigni e maligni del pancreas esocrino (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)

## F) Mammella femminile

- Mastiti acute e croniche
- Malattia fibrocistica, neoplasie benigne: papillomi e fibroadenomi, tumore filode
- Neoplasie maligne della mammella (epidemiologia, fattori di rischio, caratteri macroscopici e tipi istologici, marcatori prognostico-predittivi e stadiazione)

## G) Mammella maschile

- Ginecomastia
- Carcinoma

## H) Apparato urinario

- Rene: malattia policistica
- Malattie glomerulari: nefrite e sindrome nefrosica, glomerulonefriti (post-infettiva, membranosa, membranoproliferativa, malattia a lesioni minime, glomerulosclerosi focale segmentale, malattia di Berger, coinvolgimento del glomerulo in malattie sistemiche)
- Malattie dei tubuli: necrosi tubulare acuta

- Malattie tubulo-interstiziali: pielonefrite acuta infettiva, pielonefrite cronica, nefrite da farmaci
- Malattie vascolari del rene: rene arterio- ed arteriosclerotico, necrosi corticale diffusa, infarto renale
- Neoplasie renali benigne e maligne (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)
- Vescicela, ureteri, uretra: cisti
- Neoplasie dell'uretere (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)

## I) Apparato genitale femminile

- Vulva e vagina: neoplasie benigne e maligne (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)
- Cervicite e canale cervicale: infezione da HPV, lesioni preinvasive ed invasive del collo dell'utero (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione, Pap test e screening)
- Corpo dell'utero: flogosi, endometriosi, polipi, iperplasia, lesioni preneoplastiche e neoplasie maligne dell'endometrio e del miometrio (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)
- Ovaio: malattia policistica, cisti non neoplastiche, neoplasie benigne e maligne dell'ovaio (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)

## L) Patologia dei linfonodi e del midollo osseo

- Linfomi non Hodgkin e malattia di Hodgkin: criteri classificativi e correlazioni anatomo-cliniche, epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione
- Leucemie acute
- Sindromi mieloproliferative croniche
- Mielodisplasie

## M) Malattie della testa e del collo

- Cavità orale, laringe: patologia infiammatoria, neoplasie benigne e maligne
- Ghiandole salivari: cisti, calcoli, sialoadeniti, neoplasie benigne e maligne
- Collo: cisti branchiali, lesioni specifiche (tubercolari e sarcoidosi) e linfadenopatie neoplastiche cervicali

## N) Sistema endocrino

- Tiroide: gozzo, tiroiditi acute, subacute e croniche, diagnostica dei noduli tiroidei, neoplasie benigne e maligne (epidemiologia, caratteri macroscopici e tipi istologici, stadiazione)
- Paratiroide: iper- e ipoparatiroidismo, tumori benigni e maligni

## O) Cute

- Melanoma

## P) Sistema nervoso

- Neoplasie benigne e maligne

Qualsiasi modifica del programma vi verrà prontamente comunicata.



## Anatomia Patologica Che cos'è?

**Definizione classica:** E' una branca della medicina che studia le modificazioni morfologiche che una malattia produce su organi e tessuti.

Se le alterazioni morfologiche sono tipiche della malattia ("patognomoniche") il loro riscontro permette da solo la diagnosi della malattia (a differenza di altre discipline di laboratorio).

Lo scopo finale della diagnosi AP è fornire un giudizio il più preciso possibile su:

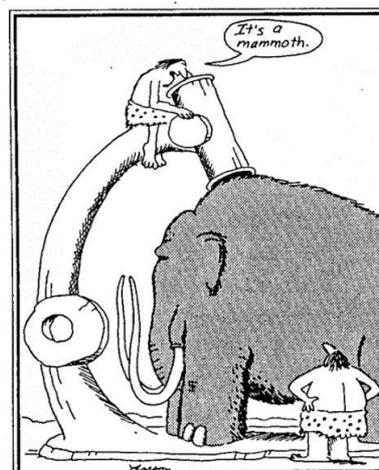
- La natura della malattia
- Lo stadio di sviluppo e le prospettive evolutive
- Indicazioni utili ai fini della terapia

## Anatomia Patologica

Caratterizzazione morfologica delle lesioni:

- **Caratteristiche macroscopiche**
- **Istologia:** studio dell'architettura dei tessuti
- **Citologia:** studio delle alterazioni cellulari

- **Patologia oncologica**
- **Patologia non oncologica**  
(es. infiammatoria, degenerativa etc.)



Early microscope

# Anatomia Patologica

## Stretta correlazione con la clinica:

i dati clinici sono un fondamentale supporto per la diagnosi istopatologica soprattutto per i casi non patognomonic.

In assenza di dati clinici o in presenza di dati clinici non corretti o non adeguatamente raccolti, esiste un concreto rischio di diagnosi errata o incompleta o clinicamente non utile.

## Risposta del patologo alle richieste del clinico

### Risposta diagnostica

- **Diagnosi di certezza:** il campione inviato contiene tutte le informazioni di una precisa malattia e non ci sono altre malattie con quadri simili (diagnosi differenziale).
- **Diagnosi di compatibilità:** il campione contiene **alcune informazioni** (non tutte) caratteristiche della malattia sospettata. Viene formulato un giudizio di compatibilità con il sospetto clinico, senza che sia possibile escludere, sulla base del solo reperto patologico altre malattie.

### Risposta non diagnostica

- **Risposta descrittiva:** il campione inviato contiene alterazioni aspecifiche, che si possono riscontrare in varie patologie (es. la flogosi). Non si possono pertanto trarre conclusioni precise su una malattia e si lascia al clinico il compito di verificare la compatibilità con sue ipotesi, che di solito non ha esplicitato.
- **Risposta non descrittiva:** il materiale è in quantità insufficiente, non contiene elementi che consentono di correlarlo alla sede da cui è stato prelevato, non è stato adeguatamente trattato (mal fissato). In questi casi la risposta del patologo è di **esame inadeguato** con l'indicazione all'effettuazione di un nuovo prelievo.

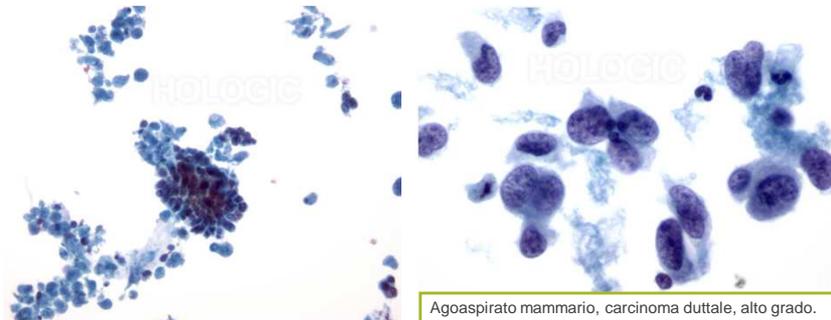


## Quali materiali biologici sottoporre ad esame isto/citopatologico ?

- Agoaspirato
- Campioni di liquidi (urine, versamenti...)
- Citologia esfoliativa (pap test)
- Biopsie escissionali ed incisionali
- Agobiopsie
- Biopsie endoscopiche
- Pezzi chirurgici
- Materiale per consulenza intraoperatoria (Esame estemporaneo al congelatore)

## Quali materiali biologici sottoporre all'esame ?

- **Agoaspirato:** L'agoaspirato è il prodotto di un'aspirazione tramite ago sottile (21-25 gauge) inserito in organi superficiali o profondi. È poco invasivo, con basso rischio di complicanze e consente di ottenere cellule sulle quali il patologo esprime un giudizio diagnostico. Deve essere eseguito preferibilmente (in presenza di lesioni palpabili es. agoaspirato mammario o tiroideo) o obbligatoriamente (in presenza di lesioni non palpabili o profonde) sotto guida ecografica o TAC (polmonare o epatico).



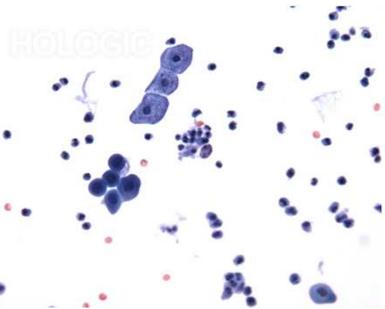
Agoaspirato mammario, carcinoma duttale.  
Questo campo osservato a piccolo ingrandimento contiene abbondante necrosi cellulare e un aggregato compatto al centro di cellule da carcinoma duttale invasivo. 20x

Agoaspirato mammario, carcinoma duttale, alto grado.  
Questo campo mostra la variabilità nella dimensione dei nuclei tipica del carcinoma duttale. Alcuni nuclei sono quasi fusiformi. La maggior parte di essi appare più grande dei neutrofili e dei linfociti presenti nelle vicinanze. Il pattern della cromatina mostra addensamenti e chiarificazioni. 60x

## Quali materiali biologici sottoporre all'esame ?

- **Campioni di liquidi**

- **Liquidi prelevati da cavità** (pleura, pericardio o peritoneo); possono essere eseguiti a paziente sveglio o durante un intervento chirurgico e prima di essere esaminati devono essere centrifugati.
- **Urine:** la raccolta delle urine (in genere in più campioni) è il primo test diagnostico in caso di sospetta neoplasia vescicale o per un controllo dopo terapia della stessa.



Urina emessa, negativa  
L'urina emessa costituisce il campione di urina ottenuto con maggiore facilità. 20x



Urina, negativa  
Le cellule ad ombrello sono grandi e di solito multinucleate. Il citoplasma di queste cellule è leggermente vacuolato. 40x



Gli esempi visti fino adesso riguardano preparati citologici quindi preparati in cui si studiano le caratteristiche intrinseche delle cellule...

... adesso prendiamo in considerazione i preparati istologici.

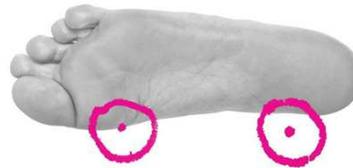
### Quali materiali biologici sottoporre all'esame ?

- **Biopsie escissionali:** piccoli prelievi di tessuto conseguenti ad un atto chirurgico, Es.: losanghe cutanee asportate per patologie neoplastiche (melanomi, epitelomi) o infiammatorie (dermatiti). A differenza delle biopsie incisionali, quelle escissionali asportano l'intera lesione.
- **Agobiopsie:** biopsie effettuate con aghi di calibro compreso tra 1,2 e 0,8 mm (14-16 gauge) sotto guida ecografica o TAC. Vengono ottenuti piccoli frammenti di tessuto da inviare al patologo (frustoli). Riguardano tessuti superficiali (mammella) o profondi (fegato, rene, prostata).
- **Biopsie endoscopiche:** durante un esame endoscopico (es. gastroscopia o colonscopia) vengono prelevati frustoli di tessuto attraverso pinze endoscopiche. Trova principali applicazioni nella patologia dell'apparato gastroenterico, urinario e respiratorio.
- **Pezzi chirurgici:** tessuti o organi (interi o parziali) asportati in seguito ad intervento chirurgico. Esaminando il pezzo operatorio il patologo si esprime sulla natura della patologia ma anche sulla completezza dell'intervento chirurgico. Es. resezione intestinale per «polipo»: valutazione della natura del polipo, dei margini di resezione, del livello di infiltrazione della neoplasia nei confronti della parete dell'organo, identificazione e valutazione dei linfonodi etc.

Per quanto riguarda i pezzi chirurgici questi possono arrivare al laboratorio in due modalità:

- A fresco
- In formalina
- **NOVITA'!!!! SOTTOVUOTO**

FEET - LIKE CARS,  
ONLY BETTER

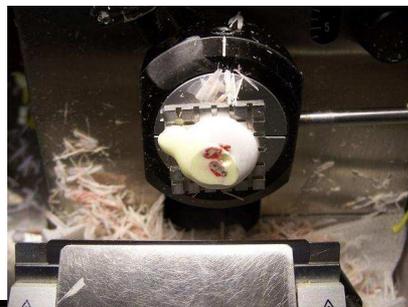


...solo se arrivano a fresco c'è la possibilità di chiedere l'esame estemporaneo...

## Esame estemporaneo

- esame patologico di un frammento tissutale che avviene durante l'intervento chirurgico, attraverso il rapido congelamento del frammento stesso. Viene effettuato in pochi minuti per una risposta a determinati quesiti del chirurgo (natura benigna o maligna di una lesione, studio di un margine di resezione, presenza di una metastasi linfonodale etc.).

*L'esame dà al chirurgo la possibilità di modificare il proprio intervento in itinere.*



## Esame estemporaneo.

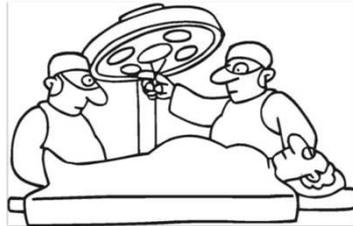
Criostato: strumento che consente il congelamento rapido di frammenti di tessuto e il successivo taglio di sezioni sottili che opportunamente colorate consentono la diagnosi patologica durante l'intervento chirurgico.



### Limiti oggettivi dell'esame intraoperatorio al congelatore

- Cattivo dettaglio morfologico con numerosi artefatti da congelamento
- Possibilità di esaminare porzioni limitate di una lesione, talvolta non rappresentative
- Necessità di osservare il preparato istologico microscopico per un tempo breve

## Requisito necessario per richiedere un esame estemporaneo



**La risposta della consulenza intraoperatoria deve modificare il tipo di intervento da eseguire.**

## Più comuni indicazioni all'esame intraoperatorio

- Definizione di natura di una lesione (benigna vs maligna); Non sempre è possibile raggiungere una soddisfacente diagnosi preoperatoria e sarà necessario demandare all'esame definitivo prima di procedere ad interventi demolitivi
- Documentare/escludere lesioni metatastatiche
- Valutazione di eventuali margini critici
- Conferma di lesioni che per qualche motivo presentino qualche ragionevole dubbio diagnostico (discrepanza clinico/patologica; motivazioni medico-legali).

## Come inviare il materiale?

Premessa: qualunque materiale biologico se non opportunamente conservato va incontro a più o meno rapida degenerazione e diventa pertanto non più utilizzabile per l'esame patologico.

Condizione fondamentale per una corretta diagnosi è che il campione pervenga in laboratorio in condizioni ottimali di conservazione.

- **Campione istologico “fresco” (per esame estemporaneo):** deve essere portato entro pochissimo tempo (massimo 20 minuti) in laboratorio e viene in genere trasportato in un contenitore avvolto in garza imbevuta di soluzione fisiologica.
- **Campione citologico:** deve essere conservato in frigorifero a 4° e consegnato il più rapidamente possibile o in alternativa deve essere trasportato con l'aggiunta di un apposito fissativo.

## Come inviare il materiale?



**Campione istologico tradizionale:** il prelievo biotico che deve essere esaminato con metodica istologica standard (non al congelatore) deve essere “fissato”. La fissazione è un processo che arresta la proteolisi e rende il tessuto più duro.

**N.B. La fissazione errata può danneggiare irreversibilmente la morfologia impedendo una corretta diagnosi patologica ed impedendo successivamente l'applicazione di metodiche ancillari (es. indagine immunohistochimica)**

## Sostanze adoperate per la fissazione

- **Formalina:** soluzione acquosa al 10% del gas formaldeide (formalina neutra tamponata); è il fissativo più utilizzato
- **Liquido di Bouin:** soluzione satura di acido picrico, acido acetico e formalina
- **Glutaraldeide** (per la microscopia elettronica)
- **Zenker** (mercurio)
- **Carnoy** (acido acetico glaciale, etanolo e cloroformio)

Per i campioni citologici i fissativi più usati sono l'etanolo 95°, il liquido di Bouin (per gli espettorati) e l'essiccazione all'aria

- Il volume del fissativo deve essere di almeno il doppio rispetto al volume del campione
- La velocità di penetrazione del fissativo nel tessuto è variabile (per la formalina 1mm x ora)
- La fissazione deve avvenire a temperatura ambiente

**10% FORMALIN POISON** 

## Il fissativo di più comune utilizzo: FORMALINA

- Formalina neutra tamponata al 10% pH=7

Soluzione costituita da 4,5 litri di acqua distillata, 0,5 litri di formaldeide al 40%, 32,5 gr di fosfato monoidrato di sodio e 20 gr di fosfato diidrato di sodio.

- Durata media della fissazione: 24 ore

Viene utilizzata come fissativo di prima scelta per:

- fissazione preliminare di voluminosi pezzi operatori;
- esame istopatologico di routine *ottimo dettaglio morfologico*



## Quali informazioni devono accompagnare il campione

### Informazioni cliniche:

- Cognome, nome, sesso ed età del paziente
- Sede esatta della lesione
- Rapporto della lesione con organi adiacenti
- Eventuali patologie concomitanti o pregresse
- Sintomatologia corrente o pregressa
- Eventuale esame radiologico (referto)
- Eventuale familiarità per patologia

Le informazioni devono essere riportate sulla richiesta di esame.

*Devono* essere respinti i campioni non accompagnati da richieste complete.

La richiesta di esame deve inoltre essere corredata da tutte le informazioni possibili riguardanti il mittente (nome del medico che invia il prelievo, reparto di appartenenza, numeri telefonici etc.) e adeguatamente firmata (in modo leggibile).

- Mario Rossi
- Bio cute

# NO

- Mario Rossi 20/8/1972 M
- Data prelievo: 01/03/2014
- Escissione di neof ormazione cutanea del III inferiore superficie anteriore della gamba destra
- Neof ormazione insorta da 3 mesi
- Contorni regolari, colore brunoastro, rilevata
- Assenza di altre lesioni circostanti

# SI

## Fasi di allestimento in Anatomia Patologica

### Campione istologico

#### Descrizione macroscopica e campionamento

- Descrizione delle caratteristiche macroscopiche del campione (dimensioni, colore, consistenza, aspetto ed estensione delle lesioni presenti). Peso del campione; misura in cm del campione (3 dimensioni). Marcatura della capsula con colorante per tessuti.
- Sezionamento del campione per ottenere prelievi dimostrativi delle lesioni e dei rapporti delle stesse con i tessuti normali circostanti; isolamento delle strutture linfonodali eventualmente presenti; i prelievi ottenuti vengono posti in biocassette e quindi in formalina.
- Il pezzo operatorio viene in genere campionato dopo una fissazione di circa 24 ore ma può essere campionato anche fresco
- La descrizione macroscopica del pezzo viene riportata insieme alla diagnosi anatomo-patologica (acquisendo eventualmente anche delle foto) sullo stesso referto.



tiroidectomia

## Fasi di allestimento in Anatomia Patologica

### Campione istologico

#### Descrizione macroscopica e campionamento



tiroidectomia



Il campione viene misurato, sezionato secondo protocolli predefiniti con descrizione accurata dei rilievi patologici



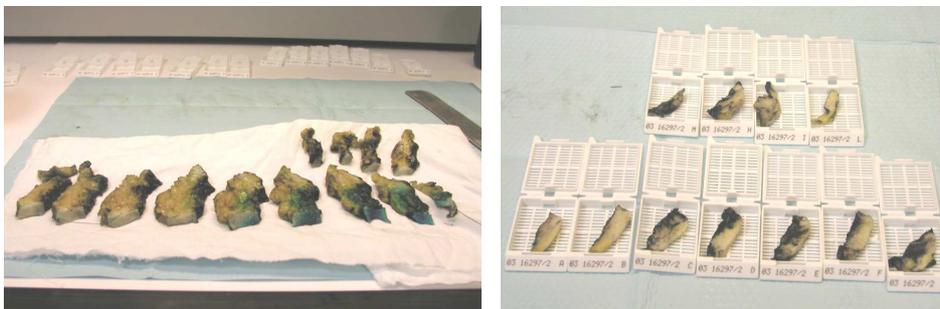
La descrizione macroscopica del pezzo viene in genere riportata insieme alla diagnosi anatomo-patologica (a volte con fotografie allegate). Si può procedere alla marcatura dei margini di resezione con inchiostro di vari colori. Questo serve a mantenere anche sui preparati microscopici l'orientamento dei margini di resezione in quanto i colori restano sulle sezioni istologiche e permettono di definire lo stato dei margini.

## Campionamento di un quadrante mammario



E' necessario orientare correttamente il campione con marcatura del/i margini prima di procedere al taglio del campione

## Riduzione del campione con selezione dei campi da allestire per successivo esame al microscopio



## Fasi di allestimento in Anatomia Patologica

### Campione istologico

#### Disidratazione

- Effettuato il prelievo il tessuto, già adeguatamente fissato in formalina, viene completamente disidratato immergendolo in etanolo a concentrazione crescente (da 50 a 100). Successivamente viene fatto passare in un solvente che ne determina la chiarificazione (xilolo) necessaria per la successiva imbibizione in paraffina.

#### Inclusione

- Dopo la disidratazione e la chiarificazione, il tessuto viene immerso in paraffina liquida, che è una «cera» con punto di fusione a 54-58° che penetra nel tessuto prendendo il posto dell'acqua; con il raffreddamento la paraffina conferisce al tessuto un grado di solidità adeguata alla successiva operazione di «taglio» permettendo l'allestimento di un "blocchetto".

Le fasi di processazione e inclusione sono attualmente realizzate tramite apparecchiature automatiche computer-assistite il che assicura una maggiore affidabilità e riproducibilità e permette di eseguire dette operazioni durante la notte.

## Fasi di allestimento in Anatomia Patologica

### Campione istologico

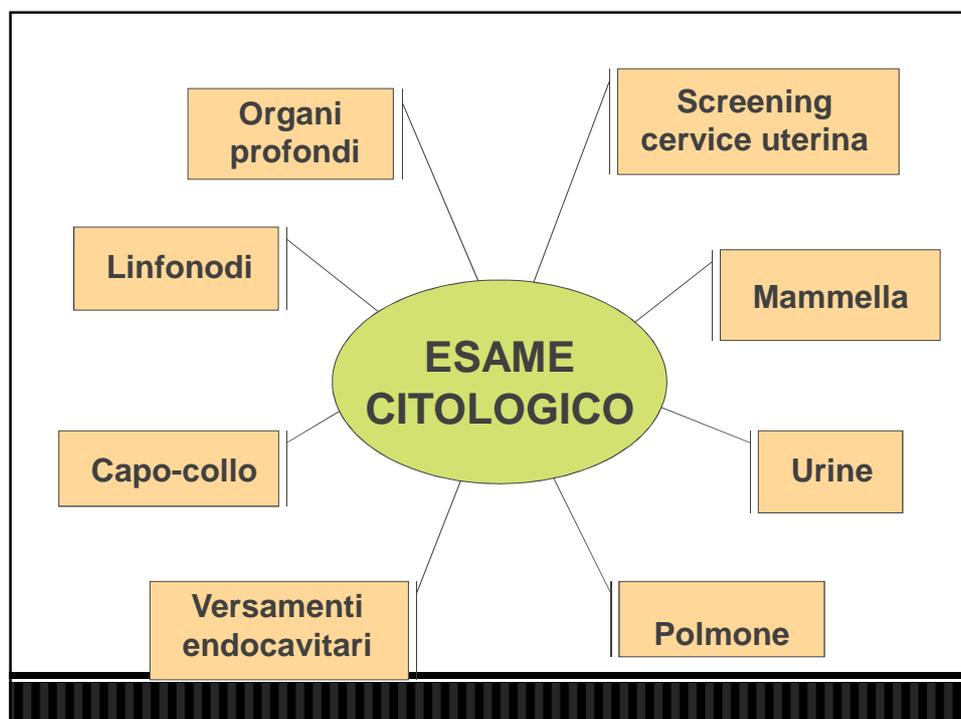
#### Taglio al microtomo

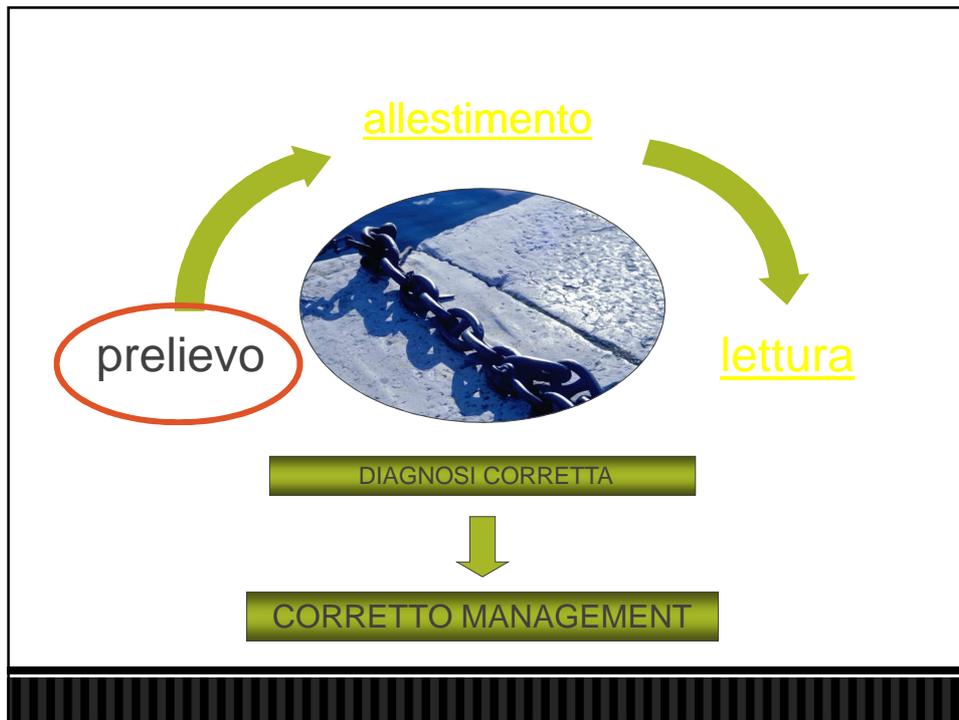
- Il microtomo è uno strumento dotato di lama che consente di ottenere dal blocchetto di paraffina sezioni molto sottili di spessore variabile (comunemente intorno ai 5 micron) che possono essere attraversate da un fascio di luce che ne permette la successiva visione con il microscopio. Esistono due tipi principali di microtomo
  - Rotativo automatico
  - A slitta
- Effettuato il taglio delle sezioni queste vengono prima distese sulla superficie di un bagnetto di acqua tiepida (40°C), quindi raccolte sulla superficie di un vetrino portaoggetti e fatte asciugare in stufa a secco per lo scioglimento della paraffina in eccesso.
- Per permettere al colorante di penetrare nel tessuto si effettua una ulteriore sparaffinatura in xilolo.
- Quindi si effettua l'idratazione del tessuto immergendo i vetrini in concentrazioni decrescenti di alcol etilico (100-95-70-50) fino all'acqua.

## Esame citologico

L'esame citologico consiste nell'osservazione al microscopio ottico di cellule ottenute

- per naturale esfoliazione spontanea (es. *espettorati, esami urinari, secrezioni mammarie, ecc.*),
- per esfoliazione indotta da manovre pressorie (*secrezione mammaria da spremitura, spremitura di raccolte purulente, ecc.*)
- scraping/raschiamento (*pap test, citologia nasale, citologia endometriale, ecc.*)
- per capillarità e/o aspirazione (*Fine Needle aspiration/FNA/FNAB/FNAC*) dai diversi organi o tessuti (*tiroide, ghiandole salivari, mammella, polmone, ecc.*).

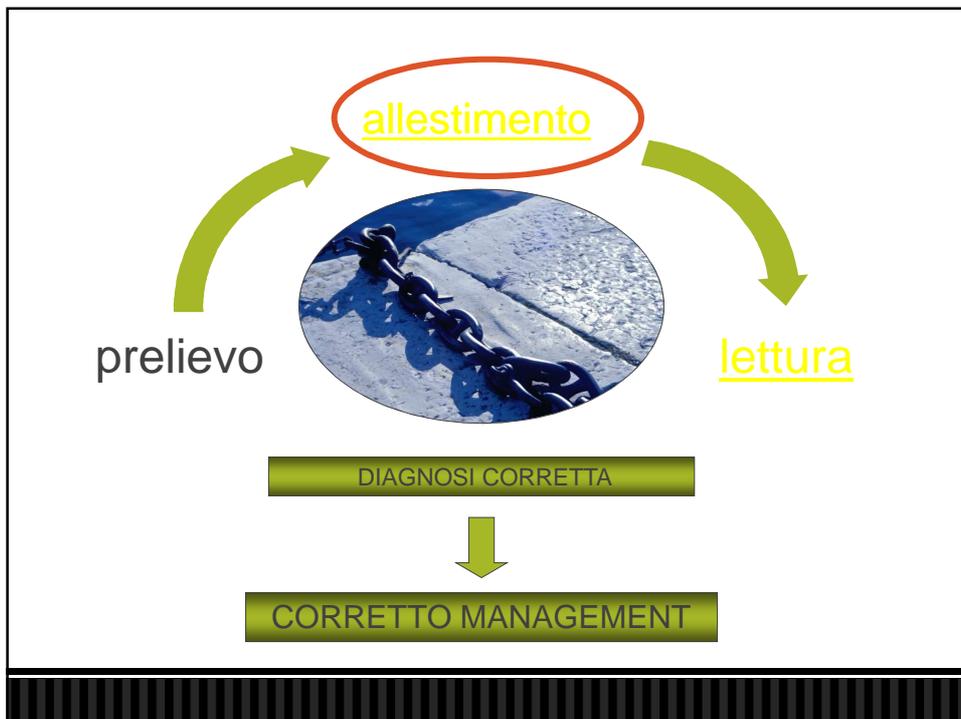
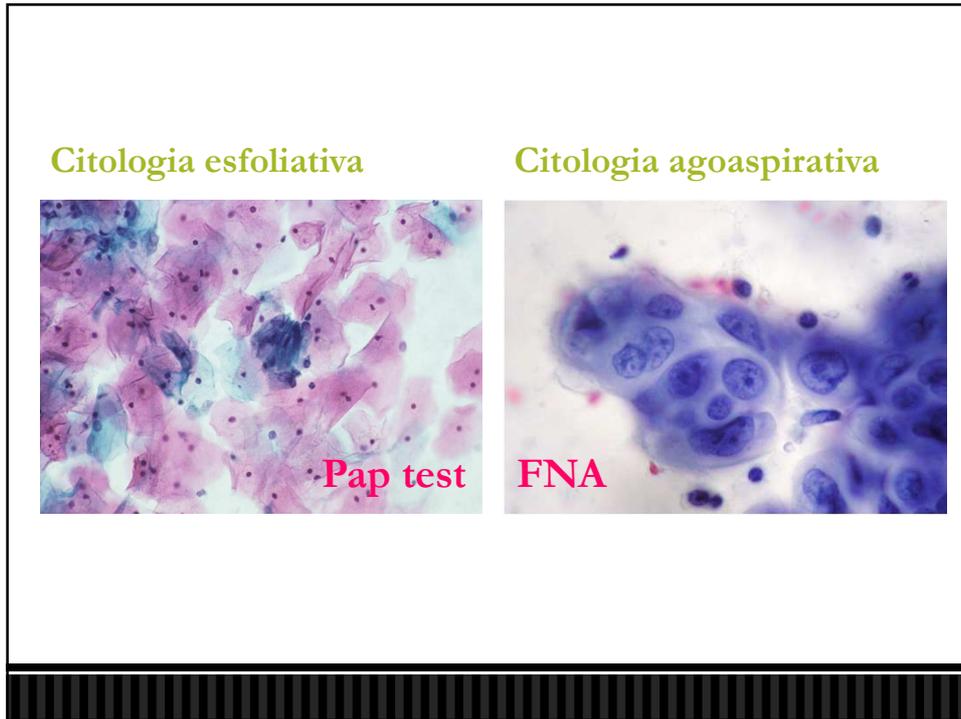




Procedura:

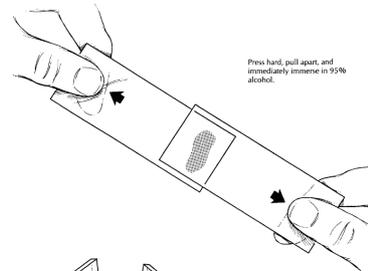
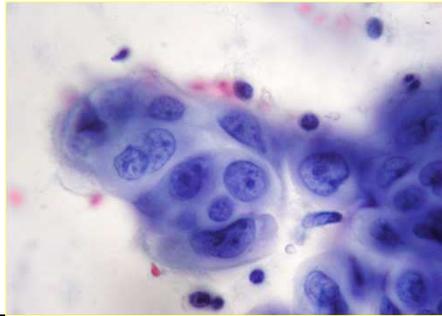
- Economica
- Ripetibile
- Non invasiva  
(o minimamente invasiva)
- Efficace
- Ben tollerata

Il campionamento per l'esame citologico è un procedimento non invasivo o, comunque, minimamente invasivo che consente di fare prevenzione e diagnosi precoce con costi molto contenuti, rischi bassissimi (rare le complicanze riportate in letteratura a fine procedura), di rapida esecuzione e praticamente indolore.



## Fasi di allestimento del campione citologico

In genere il campione citologico viene depositato ("strisciato") su un vetrino in modo da formare un unico strato di cellule, quindi fissato in etanolo a 95° e quindi colorato secondo la metodica Papanicolaou. In alternativa il materiale può essere strisciato e lasciato ad essiccare all'aria e quindi colorato con la metodica Giemsa



Press hard, pull apart, and immediately immerse in 95% alcohol.



### Small Brain Biopsies for Glial Neoplasms

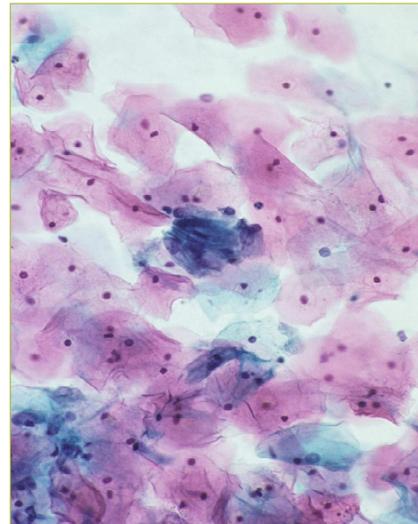
1. Take a 1 mm core of the specimen and cross it between two glass slides, immediately fix the slides in 95% alcohol, and then stain them for cytologic evaluation.
2. Avoid freezing all of the tissue when a frozen section evaluation is requested. Set a portion of the tissue aside for routine processing, or find out from the surgeon if more tissue will be provided later.
3. When performing a frozen section, freeze the tissue rapidly. Rapid freezing will minimize tissue distortion caused by the formation of ice crystals.

## Fasi di allestimento del campione citologico

### Pap Test (striscio cervico-vaginale)

Il vetrino deve essere contrassegnato con cognome e nome della paziente (a matita sulla parte smerigliata del vetrino); dopo aver strisciato il materiale questo viene fissato con fissativo spray (cytofix) e lasciato ad asciugare e trasportato al laboratorio.

Il campione così trattato rimane inalterato per diversi giorni in attesa di essere successivamente colorato obbligatoriamente con colorazione Papanicolaou.



## Fasi di allestimento del campione citologico Citologia urinaria

### RACCOLTA URINE:

Scartare le prime urine del mattino, bere un bicchiere d'acqua e dopo due ore raccogliere le urine direttamente nel contenitore fornito dalla sala prelievi in precedenza.

È necessario raccogliere un campione al giorno per tre giorni consecutivi segnalando sui contenitori I, II, III.

I campioni così raccolti devono essere conservati in frigorifero sino al giorno della consegna, che può essere effettuata per tutti i tre campioni alla terza giornata.

I contenitori sono stati preparati aggiungendo una opportuna quantità di alcool 50° allo scopo di garantire la conservazione del materiale.



*Urina emessa, negativa*  
L'urina emessa costituisce il campione di urina ottenuto con maggiore facilità. 20x

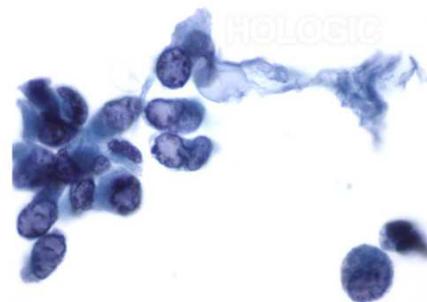


*Urina, negativa*  
I campioni benigni di urina non presentano in genere tracce di sangue. La presenza di cilindri eritrocitari può indicare un sanguinamento dei reni. 60x

## Fasi di allestimento del campione citologico Citologia urinaria

La citologia urinaria viene generalmente effettuata in soggetti a rischio quali:

- individui con sintomatologia urinaria (ematuria, pollachiuria, stranguria);
- lavoratori esposti ad agenti cancerogeni quali amine aromatiche (alanina);
- pazienti sottoposti ad irradiazione della pelvi o a cicli di ciclofosfamide;
- pazienti in trattamento per neoplasia dell'urotelio, data la frequenza delle recidive che si verificano in tali casi.

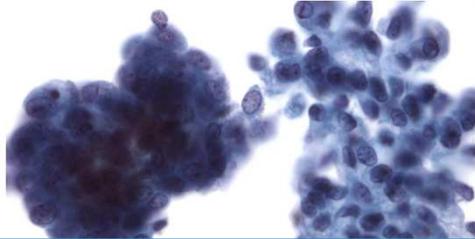


*Urina ottenuta da catetere, carcinoma uroteliale di alto grado.*  
I nuclei del carcinoma uroteliale di alto grado sono spesso eccentrici con membrane inspessite e ritorte. 60x



*Urina, carcinoma uroteliale di alto grado.*  
I tumori uroteliali possono avere carattere papillare o non papillare. 60x

## Fasi di allestimento del campione citologico Citologia urinaria



*carcinoma di basso grado  
È possibile confrontare le cellule uroteliali normali presenti sulla  
destra con l'aggregato denso sulla sinistra. 40x*



*Urina emessa, carcinoma di basso grado  
La cromatina presente nel carcinoma  
uroteliale di basso grado è in genere  
granulare e distribuita uniformemente. 60x*

Normalmente l'urina è un liquido poco cellulare; come il liquido passa attraverso tubuli, pelvi renale, uretere, vescica ed uretra, esso raccoglie le cellule che desquamano derivanti dagli epiteli di questi organi.

L'esame delle urine non è invasivo per il paziente e gioca un ruolo importante nei pazienti con pregressa storia di neoplasia vescicale (monitoraggio della progressione) e nelle recidive; per una buona riuscita dell'esame ha un ruolo fondamentale il paziente che deve collaborare sia nella raccolta, conservazione e trasporto del materiale e sia nell'indicare all'osservatore eventuali patologie, terapie o manovre effettuate che possono inficiare il buon esito dell'esame.

## Fasi di allestimento del campione citologico Citologia bronchiale

È possibile ottenere il materiale cellulare necessario per formulare una diagnosi di cancro ai polmoni utilizzando una delle cinque tecniche elencate di seguito.

- La tecnica più vecchia e utilizzata è la **raccolta dell'escreato** che dipende dallo sfaldamento spontaneo delle cellule.
- Vi sono poi le **tecniche broncoscopiche** che includono
  - lavaggio bronchiale,
  - brushing bronchiale e
  - lavaggio broncoalveolare.
  - Infine, è possibile utilizzare tecniche di aspirazione con ago attraverso il torace sotto guida radiografica o durante una broncoscopia.

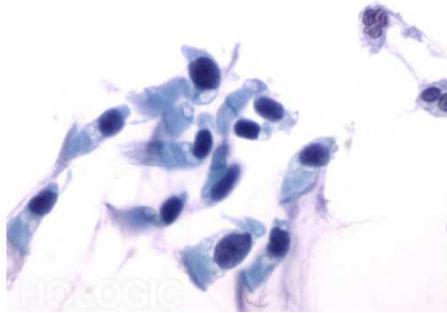
### **Escreati tracheo-bronchiale**

L'esame viene eseguito su materiale raccolto per tre mattine consecutive.

Il materiale si ottiene con un'espettorazione profonda, in quanto quella proveniente dalle alte vie respiratorie potrebbe non essere idonea a riconoscere lesioni dei grossi bronchi. Viene raccolto in appositi contenitori di plastica.

La consegna deve avvenire entro 1-3 ore dalla raccolta.

## Fasi di allestimento del campione citologico Citologia bronchiale



**Escreato**  
In alcuni campioni le cellule epiteliali bronchiali possono essere ipercromatiche o picnotiche. 60X



**Escreato**  
Ingrandimento elevato che mostra cellule epiteliali bronchiali con nuclei picnotici. 60X

## Fasi di allestimento del campione citologico Citologia bronchiale

Il BAL è un'indagine endoscopica dell'albero tracheobronchiale tramite broncoscopio flessibile con prelievo di campione liquido broncoalveolare. **Modalità di esecuzione:** a fibroscopio incuneato (di preferenza il bronco lobare medio o il bronco linguare), introduzione in un bronco lobare di 100-150 cc di soluzione fisiologica in aliquote di 30-50 ml, a cui segue un'aspirazione lenta per la raccolta del campione di liquido proveniente dalla regione broncoalveolare esplorata, per esame citologico e/o microbiologico.



### INDICAZIONI:

Sebbene il giudizio clinico e l'esperienza degli operatori debbano sempre guidare in ogni singolo caso l'impiego della broncoscopia con lavaggio broncoalveolare, questa trova indicazione, in regime ambulatoriale, nelle seguenti condizioni:

- Lesioni polmonari evidenziate all'esame radiografico e/o alla TAC del torace (addensamenti, infiltrati, aree di iperdiafania localizzata);
- Dispnea di origine non definita (dopo avere escluso la genesi cardiogena);
- Presenza di cellule sospette per atipica o francamente atipiche nell'esame citologico dell'escreato;
- Pneumopatia infiltrativa diffusa;
- Patologia polmonare infettiva localizzata o diffusa

La fibrobroncoscopia deve essere sempre preceduta da un'attenta valutazione clinico-anamnestica del paziente. La **TAC del torace** (meglio ad alta risoluzione - HRTC) è indispensabile nel caso di patologia infiltrativa polmonare diffusa.

## Fasi di allestimento del campione citologico Citologia bronchiale

Materiale raccolto tramite broncoscopio direttamente dal lume bronchiale o dopo instillazione di soluzione fisiologica che viene successivamente aspirata (broncolavaggio) per esame citologico



Lavaggio broncoalveolare  
È possibile che sia i macrofagi che le cellule epiteliali bronchiali presentino multinucleazione. 40x

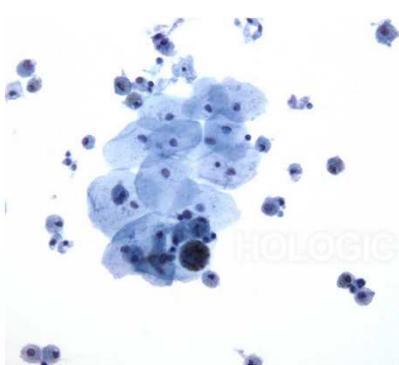


Broncoscopio

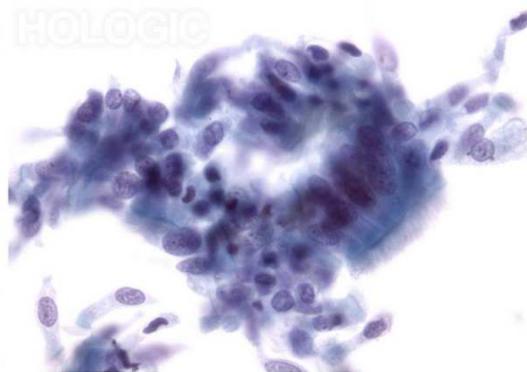


Ingrandimento elevato di una cellula epiteliale bronchiale multinucleata. È possibile notare il complesso di giunzione che supporta le ciglia. 60x

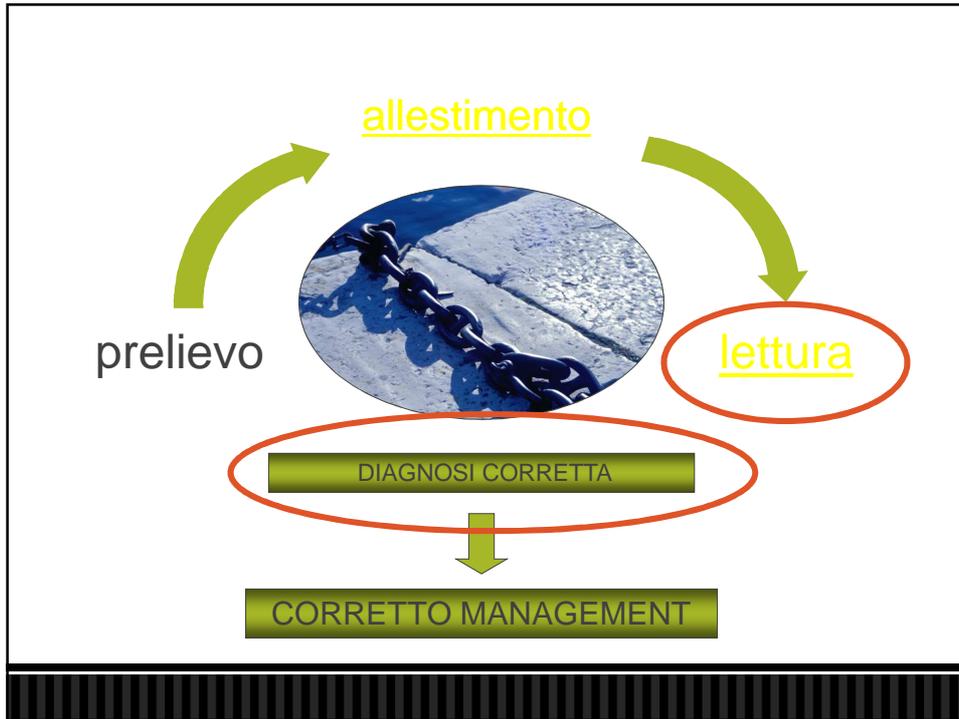
## Fasi di allestimento del campione citologico Citologia bronchiale



Lavaggio broncoalveolare  
Le cellule squamose orali sono comuni nei campioni respiratori. 20x

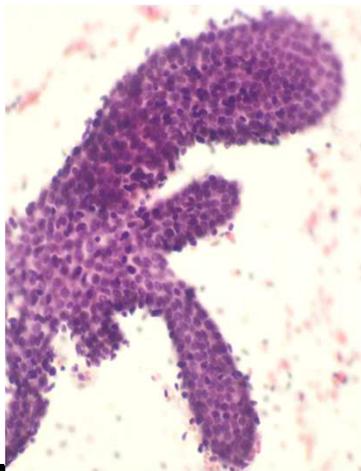


Brushing bronchiale  
Questo aggregato cellulare mostra cellule epiteliali bronchiali con ciglia, una caratteristica dell'epitelio bronchiale benigno. 40x

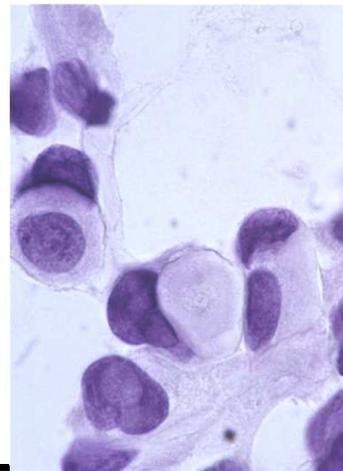


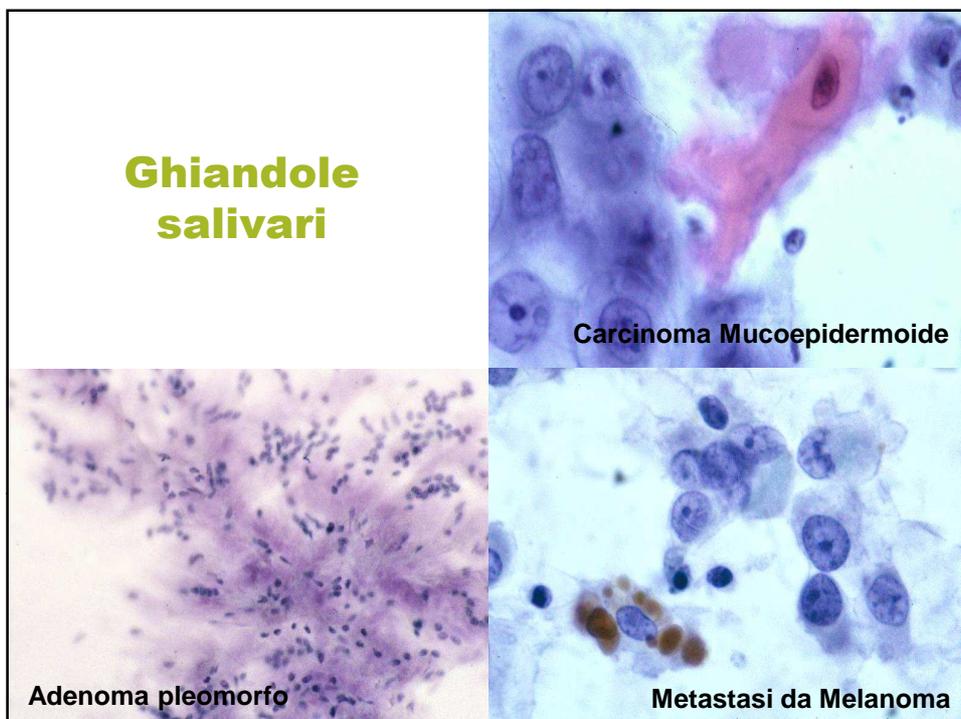
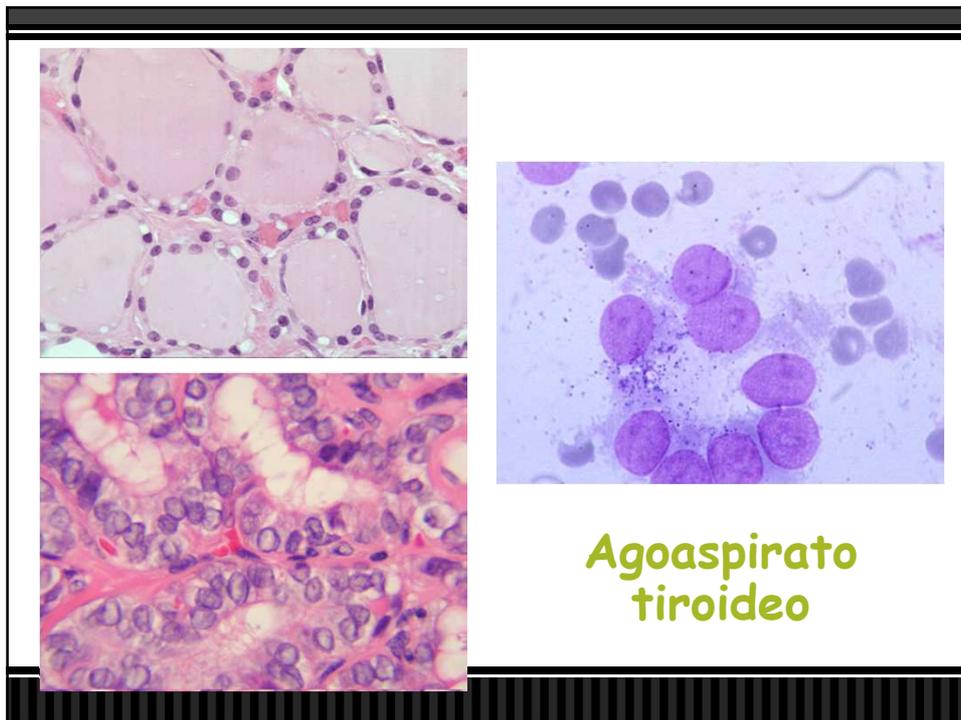
### Fasi di lettura del campione citologico Citologia mammaria

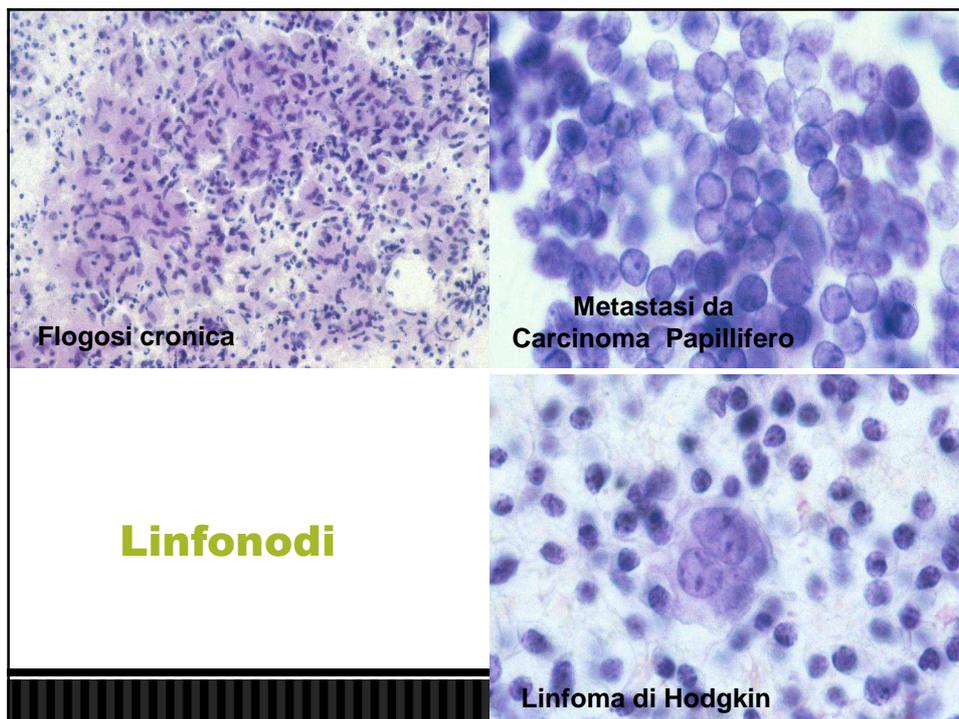
Lesione benigna



Lesione maligna





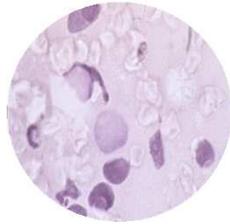


## Esito dell'esame citologico

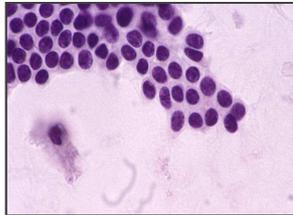
L'esito di un **esame citologico** condurrà ad un **referto citologico** che contempla, in genere, 5 categorie di risposta:

- **C1:** non adeguato/non valutabile. La presenza di un eccesso di sangue nel materiale prelevato, la necrosi del tessuto, una fissazione non perfetta o la scarsità di cellule non permette di arrivare ad una conclusione diagnostica. In questo caso l'anatomopatologo si limiterà ad una descrizione di quanto presente sul preparato e concluderà il suo referto con C1 (non adeguato/non valutabile).
- **C2:** esito benigno. Ogni qual volta che sui preparati citologici siano presenti cellule normotipiche (a normale morfologia) la diagnosi conclusiva è C2 (patologia benigna). In questo ambito rientrano anche i contesti infiammatori.
- **C3:** esito dubbio. Se le cellule presentano alcune caratteristiche non del tutto in linea con quelle che si riferiscono alle patologie benigne, sul referto viene riportata la classe C3. Una piccola percentuale (circa il 15-20%) di questi casi può però essere riconducibile alla presenza di una neoplasia maligna. E' per questo motivo che il C3 normalmente necessita di un ulteriore approfondimento diagnostico di livello superiore (in genere una biopsia per un riscontro istologico).
- **C4:** esito dubbio, probabilmente maligno. Se le cellule presentano marcate alterazioni ma non ancora tutte le caratteristiche della malignità vengono classificate come C4 (probabilmente maligno). Oltre l'80% di questi casi si confermerà tale.
- **C5:** esito francamente maligno. Nei casi in cui gli elementi cellulari presenti sul vetrino presentino tutte le caratteristiche tipiche di una neoplasia (tumore maligno) il referto sarà C5 con una attendibilità altissima (superiore al 99%).

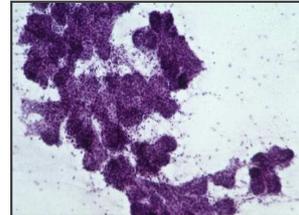
## Classificazione delle diagnosi citologiche NHS-Breast Screening Programme (1993)



C1- Inadeguato

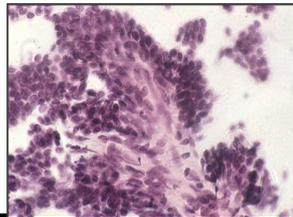


C2 - Benigno

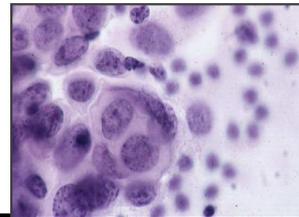


C3 - Verosimilmente benigno

C4 - Sospetto per malignità



C5 - Maligno



## Fasi di allestimento del campione citologico Citologia dei versamenti

- I versamenti ristagnano all'interno delle cavità corporee o dei tessuti circostanti a causa di processi patologici. Se le cavità corporee in cui possono ristagnare i fluidi sono limitate a quattro (cavità pleurica destra e sinistra, cavità peritoneale e cavità pericardica), le cause dei versamenti sono molto più numerose.
- La corretta interpretazione citologica dei versamenti è coadiuvata dalla conoscenza dell'anamnesi clinica, dalle condizioni cliniche correnti, dai risultati delle radiografie e dalla determinazione della composizione chimica del versamento.
- Gli accumuli di fluidi vengono suddivisi in quattro categorie: **idrostatici, infettivi, infiammatori non infettivi e maligni.**

**Grazie!**

