SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Anno Accademico 2026-2027

Corso integrato di Metodologie diagnostiche in anatomia patologica

Modulo di Citopatologia

~~Modulo di Tecniche di anatomia patologica~~

Manila Antonelli

PROGRAMMA

Obiettivi formativi

Lo studente dovrà acquisire conoscenze della citopatologia diagnostica, compresa la citologia aspirativa con ago sottile e delle problematiche citologiche e classificative di alcune neoplasie.

Programma

Ruolo della citologia
Applicazioni della citologia
Tecniche di citologia
Citologia urinaria
Citologia tiroidea
Citologia cervico-vaginale
Citologia pleura
Citologia polmonare

FACOLTÀ DI MEDICINA E FARMACIA
POLO DIDATTICO DEL MOLISE- IRCCS NEUROMED
CORSO DI LAUREA TECNICHE SANITARIE DI LABORATORIO BIOMEDICO

CORSO INTEGRATO DI METODOLOGIE DIAGNOSTICHE IN ANATOMIA PATOLOGICA
Modulo di istituzioni di citopatologia

Obiettivi formativi
Lo studente dovrà acquisire conoscenze della citopatologia diagnostica, compresa la citologia aspirativa con ago sottile e delle problematiche citologiche e classificative di alcune neoplasie.

Programma
Ruolo della citologia
Applicazioni della citologia
Tecniche di citologia
Citologia urinaria
Citologia tiroidea
Citologia cervico-vaginale
Citologia pleura
Citologia polmonare

Modalità di erogazione: lezioni in presenza
Modalità di valutazione: esame orale

Testi adottati

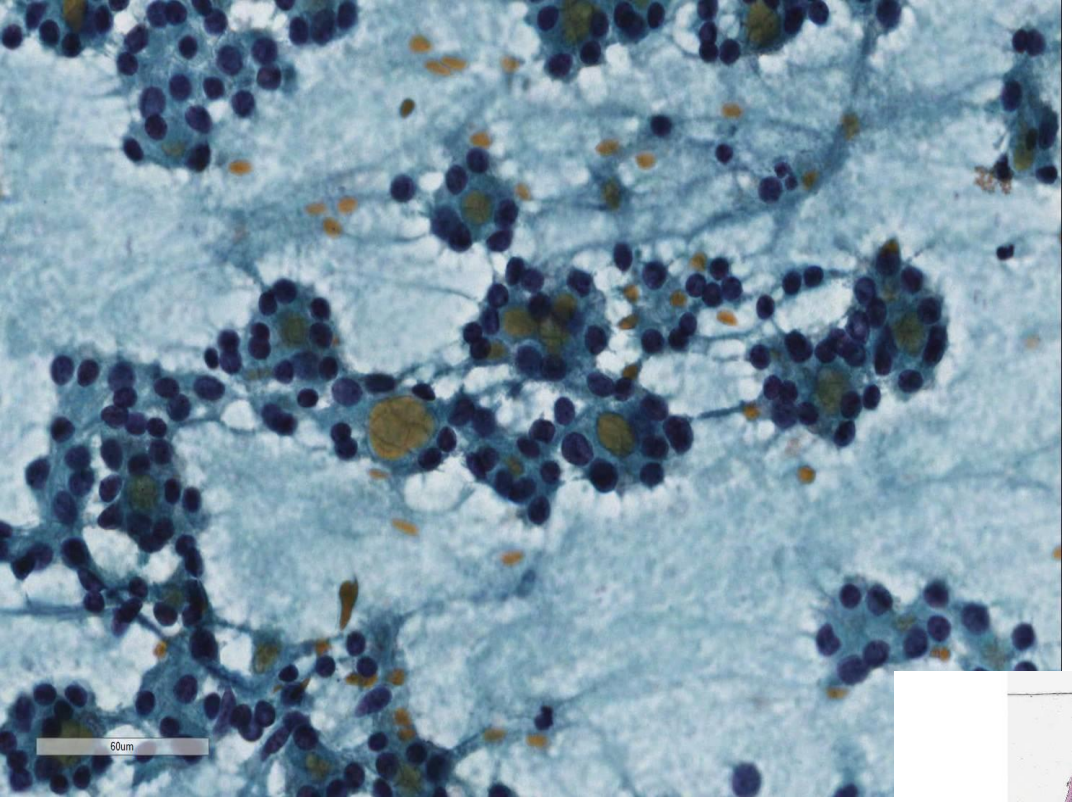
L . Ruco- A. Scarpa
Anatomia Patologica
Le basi
UTET

LEZIONE – Argomenti trattati

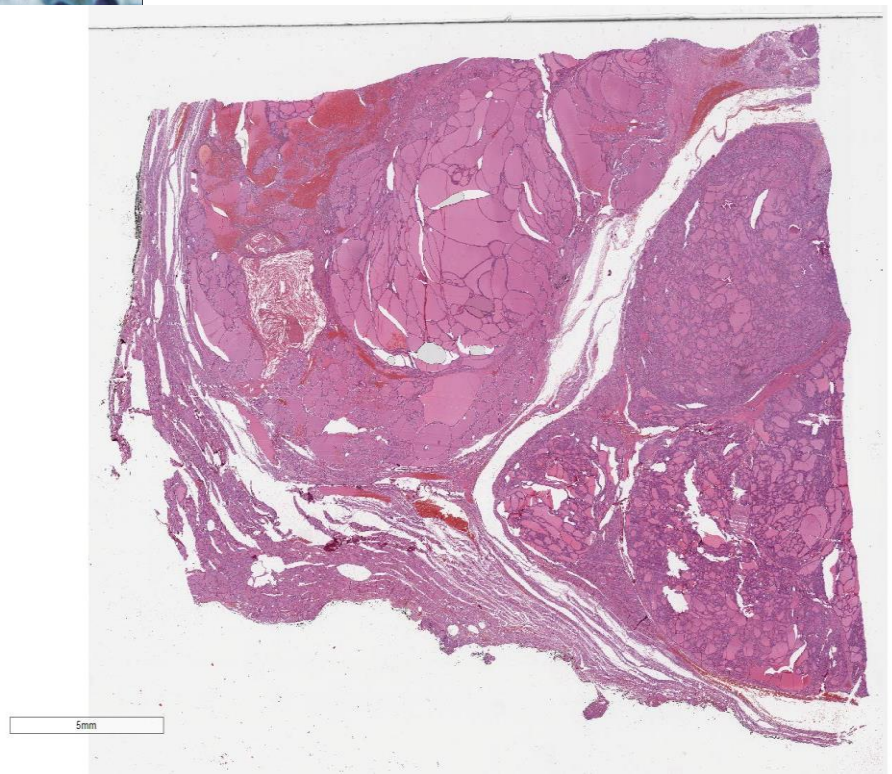
1. Ruolo della citologia
2. Applicazioni della citologia

La **citopatologia** o citodiagnostica è una branca dell'anatomia patologica.

La citologia studia la cellula sotto il profilo morfologico.



Citologico tiroide



Istologico tiroide

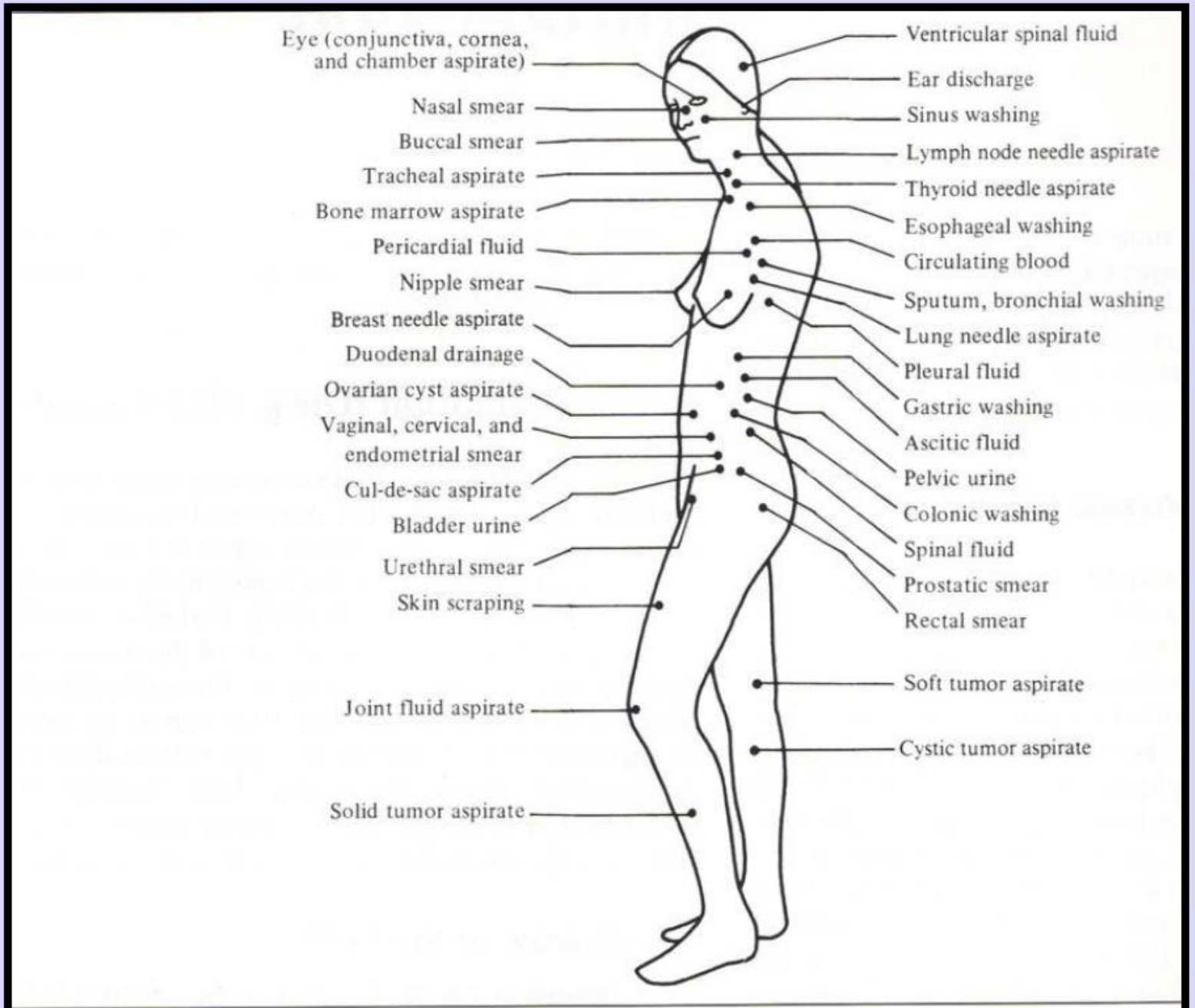


Fig. I-1. The most common sources of cytologic specimens.

APPLICAZIONI DELLA CITOLOGIA

Può essere

"di tipo diagnostico"

se si sospetta già una malattia

oppure **(Pap Test)**

"di screening"

se viene eseguita su persone apparentemente sane al fine di prevenire la possibile comparsa di una malattia

APPLICAZIONI DELLA CITODIAGNOSTICA

Nel primo inquadramento di condizioni patologiche accertate ma di natura ancora da determinare

Utilizzata come test per la discriminazione

tra "patologie neoplastiche /patologie non neoplastiche"

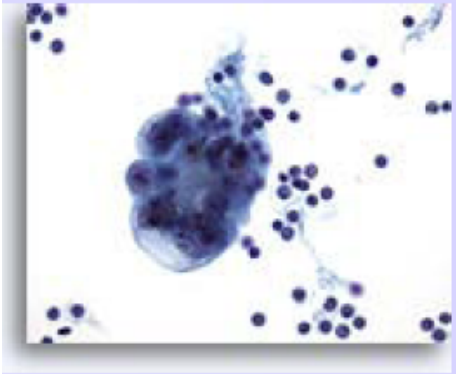
in pazienti con sintomatologia aspecifica

APPLICAZIONI DELLA CITODIAGNOSTICA

Utilizzata come test per la **definizione** diagnostica di **lesioni già riconosciute** clinicamente o a mezzo di "diagnostica per immagini" (RMN –TAC –RX –Ecografia)

Esempi:

- Citologia da agoaspirazione con ago sottile (FNA)
- Esame citologico del lavaggio bronchiale



APPLICAZIONI DELLA CITODIAGNOSTICA

Nel follow-up di malattia

Utilizzata come indagine per il **monitoraggio** di pazienti affetti da una specifica patologia

(analisi dell'evoluzione, post-trattamento o spontanea, della malattia)

Esempi:

- Esame citologico di brushing di organi cavi
- Esame citologico delle urine

CITODIAGNOSTICA: VANTAGGI

- **rapida** esecuzione
- costi **contenuti**
- prelievi senza anestesia
- prelievi facilmente **ripetibili** in caso di insuccesso
- metodica poco "fastidiosa" per il paziente
- elevata sensibilità e specificità **in mani esperte**
- minime complicanze

RUOLO DELLA CITOLOGIA

La citologia riveste un ruolo importante nella medicina moderna, soprattutto contribuendo alla diagnosi delle malattie tramite l'esame morfologico, al microscopio ottico, delle cellule prelevate da organi solidi o cavi

TECNICHE DI PRELIEVO CITOLOGICO

mediante tecniche di **agoaspirazione**, **lavaggio**, **spazzolamento** o per **esfoliazione**

- AGOASPIRAZIONE
- ESFOLIAZIONE
- SPAZZOLAMENTO
- LAVAGGIO

AGOASPIRAZIONE

Citologia per aspirazione con ago sottile (FNA)

Cellule asportate mediante prelievo con ago sottile

- a differenza di altre metodologie, presuppone un **bersaglio**



- la punzione può essere effettuata su organi o lesioni superficiali e profonde

- per le **sedi profonde** viene eseguita sotto **monitoraggio radiologico** (TAC o eco-guidata)

SEDI DI PRELIEVO PIÙ FREQUENTI



- mammella
- tiroide
- linfonodi
- ghiandole salivari
- noduli sottocutanei
- fegato
- polmone



ESFOLIAZIONE

spontanea e provocata

CITOLOGIA ESFOLIATIVA

SPONTANEA

E' il tipo di citologia più immediata e di facile applicabilità per la semplicità di raccolta del materiale

- l'esfoliazione delle cellule è un processo che avviene in continuazione, correlato al rinnovamento dei tessuti del corpo

- la percentuale di cellule esfoliate varia a secondo dei tessuti, loro funzioni e metabolismo

- in parte esfoliano fisiologicamente, in parte in condizioni patologiche

CITOLOGIA ESFOLIATIVA

Cellule esfoliate spontaneamente si ritrovano in:

- urine
- espettorato
- secrezioni
- versamenti (pleurico, pericardico, ascitico, sinoviale)
- liquor (liquido cerebrospinale)

CITOLOGIA PER ESFOLIAZIONE PROVOCATA

Cellule attivamente asportate dalla superficie di una mucosa o di una lesione

citologia talvolta legata all'uso di apparecchiature endoscopiche flessibili a fibre ottiche:

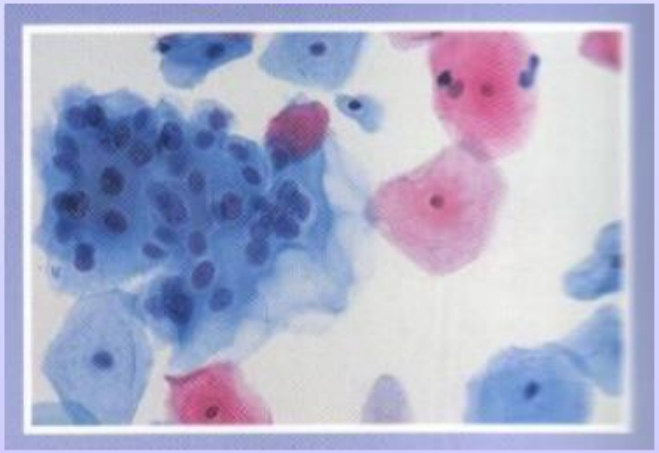
- spazzolato o *brushing* di organi cavi:
  es. tubo digerente, trachea e bronchi
- lavaggio o *washing* di lesioni periferiche:
  es. ramo bronchiale e spazi bronchiolo-alveolari

- *scraping* di organi accessibili dall'esterno:
  es. cervice uterina e vagina

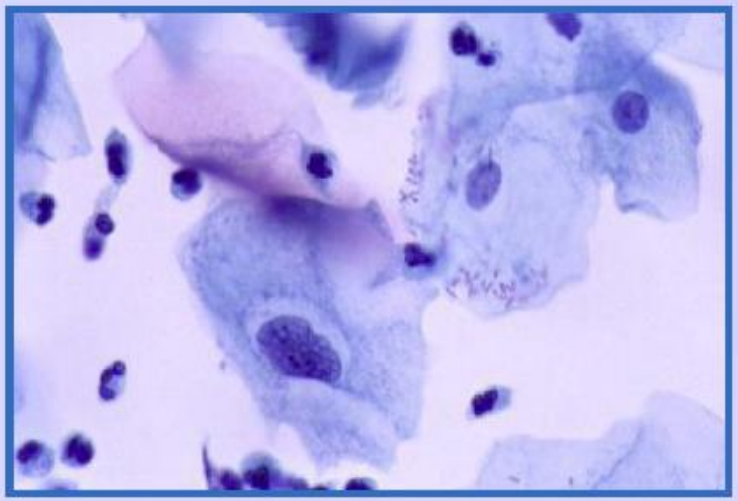
WASHING / LAVAGGIO

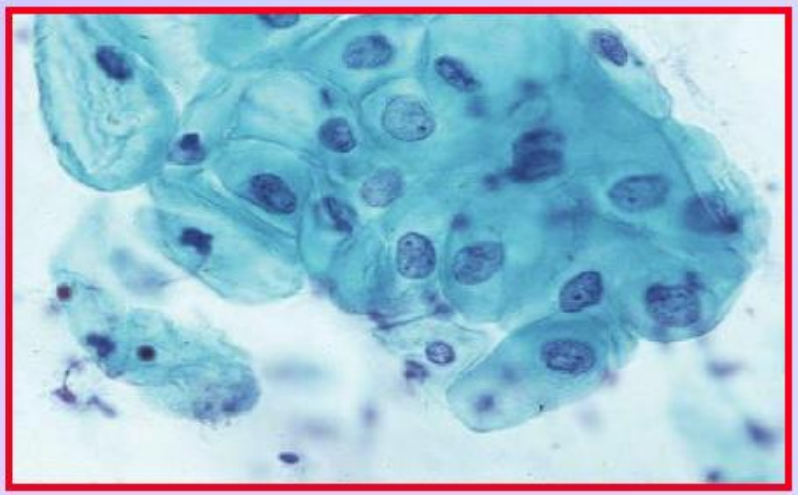
- lavaggio o *washing* di lesioni periferiche:

  es. ramo bronchiale e spazi bronchiolo-alveolari

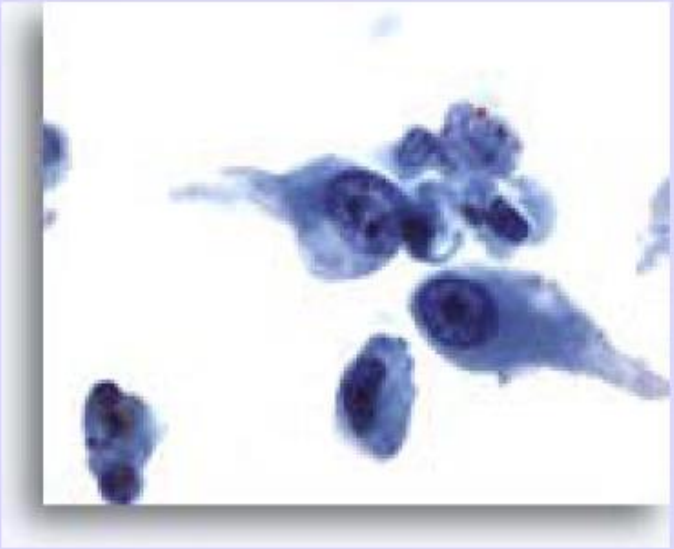


ESEMPI DI CITOLOGIA ESFOLIATIVA Spontanea





CITOLOGIA URINARIA



largamente utilizzata nella **diagnosi e nel follow-up** delle neoplasie vescicali e da molti è ancora ritenuta l'esame fondamentale per questa patologia

CITOLOGIA URINARIA

La citologia urinaria è una delle più importanti metodiche diagnostiche in urologia oncologica, a patto che:

- sia usata in **modo appropriato** dall'urologo in circostanze e per ragioni ben definite
- sia processata in un laboratorio adeguato ed interpretata da **professionisti competenti** nell'esame di tali campioni
- l'urologo ed il citologo siano **consapevoli dei limiti** della metodica e delle possibili fonti di errore

CITOLOGIA URINARIA

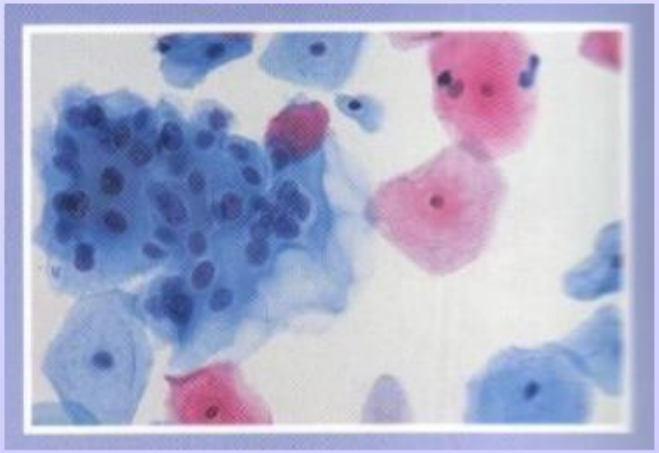
La citologia urinaria viene generalmente effettuata in soggetti a rischio quali :

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

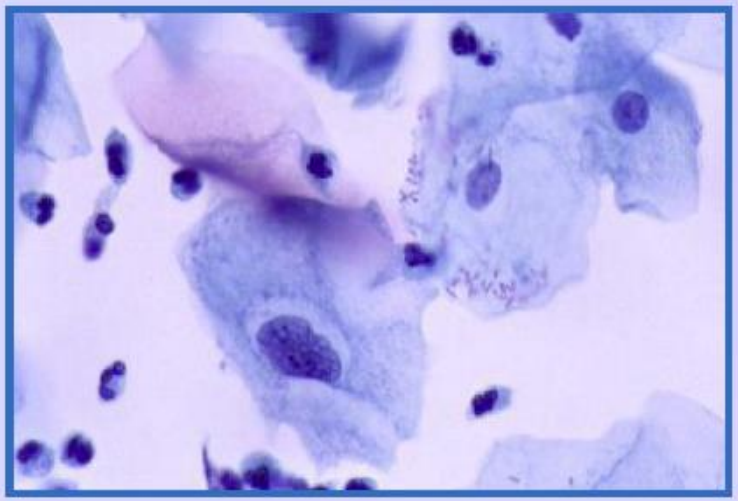
CITOLOGIA URINARIA

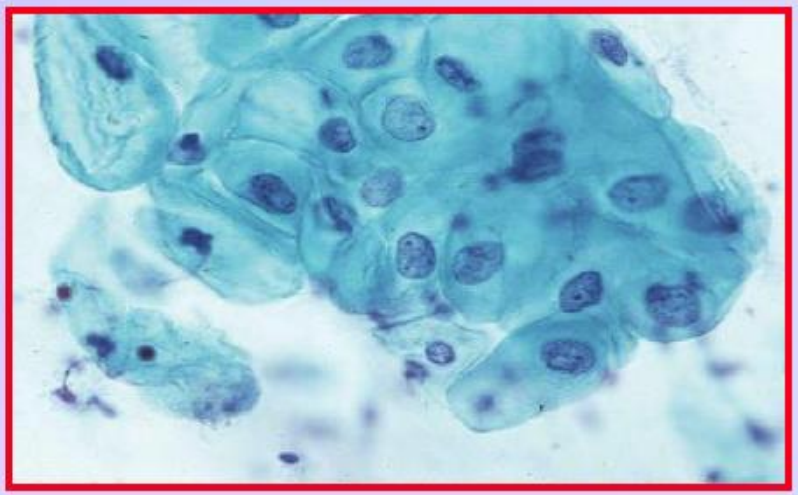


Normalmente l'**urina** è un liquido acellulato prodotto durante la funzione escretrice renale; come il liquido passa **attraverso tubuli, pelvi renale, uretere, vescica ed uretra, esso raccoglie le cellule che desquamano** derivanti dagli epiteli di questi organi anche se la quantità è scarsa per l'adesione tra loro delle cellule epiteliali



ESEMPI DI CITOLOGIA ESFOLIATIVA PROVOCATA





CITOLOGIA ESFOLIATIVA GINECOLOGICA (PAP TEST)

E' una metodica utilizzata
da oltre 60 anni per prevenire il carcinoma del collo dell'utero,
individuando precocemente lesioni pretumorali
che possono essere trattate

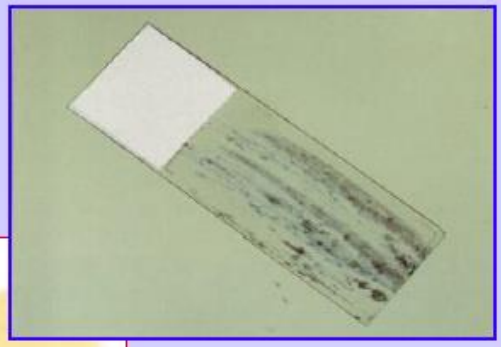
La lentezza del processo consente di **individuare precocemente e trattare** le lesioni pretumorali più gravi **interrompendo così il processo**

(da L. Koss) "….Il concetto di citologia diagnostica è stato grandemente influenzato dagli sforzi di **Dr George N. Papanicolaou**. Il suo contributo alla nostra conoscenza della presentazione citologica del cancro hanno cambiato lo stato della citologia **da una disciplina largamente teorica ad una procedura di laboratorio universalmente accettata**…"

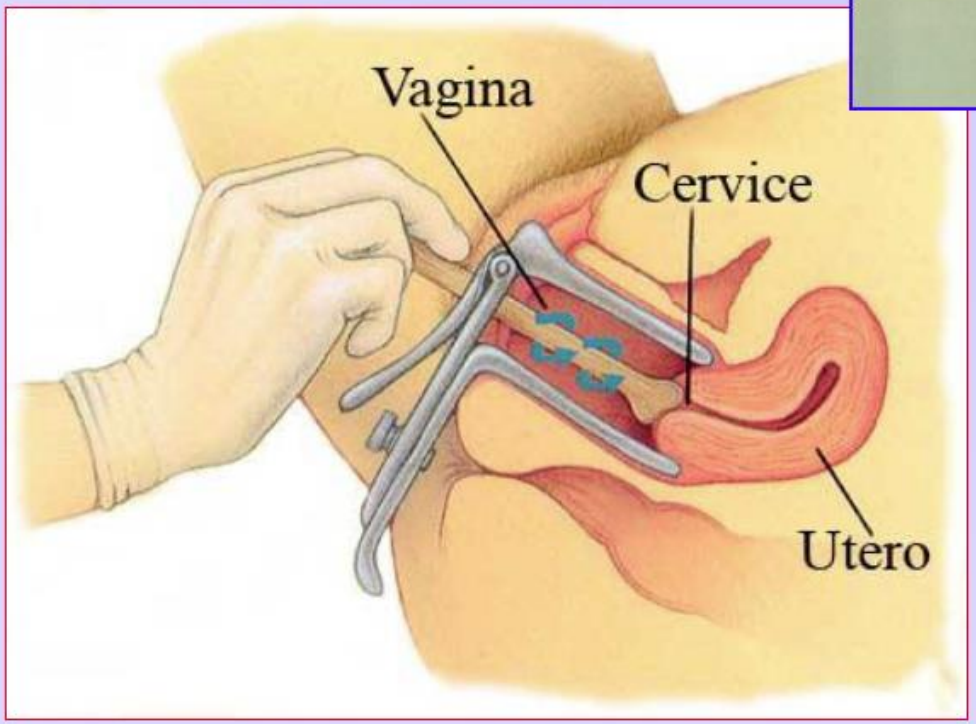
George N. PAPANICOLAOU

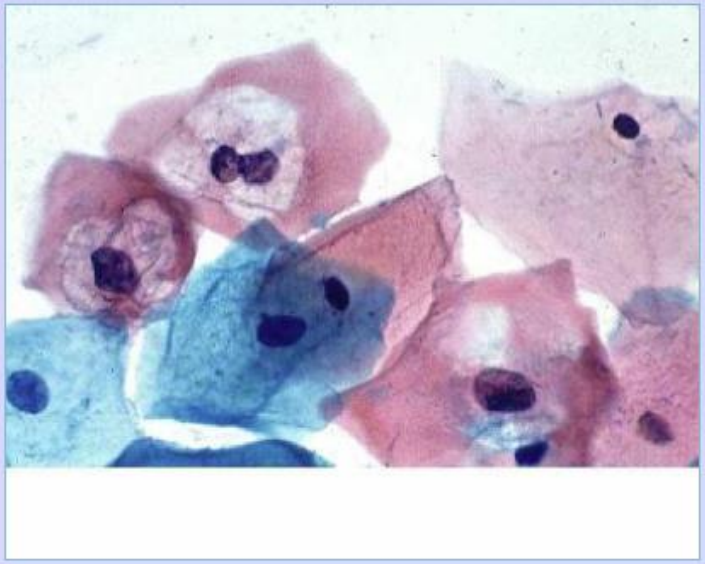


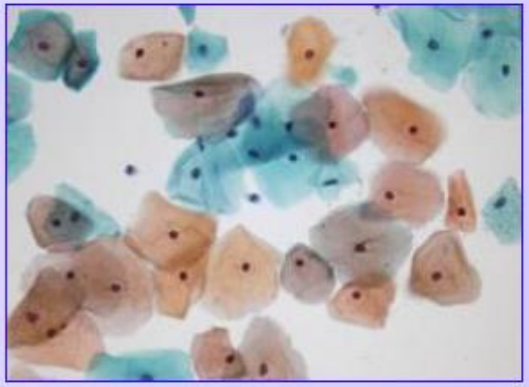
PAP TEST




cellule
sane
alcune
cellule in via di
alterazione


Vagina
Cervice
Utero





PAP TEST

Nonostante alcuni limiti, tra i quali essere in parte operatore-dipendente, risulta comunque

un test molto efficace

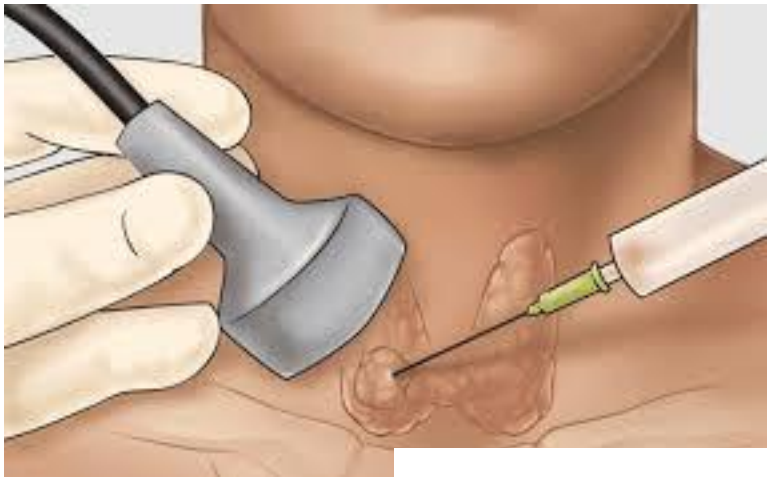
soprattutto quando è inserito in un

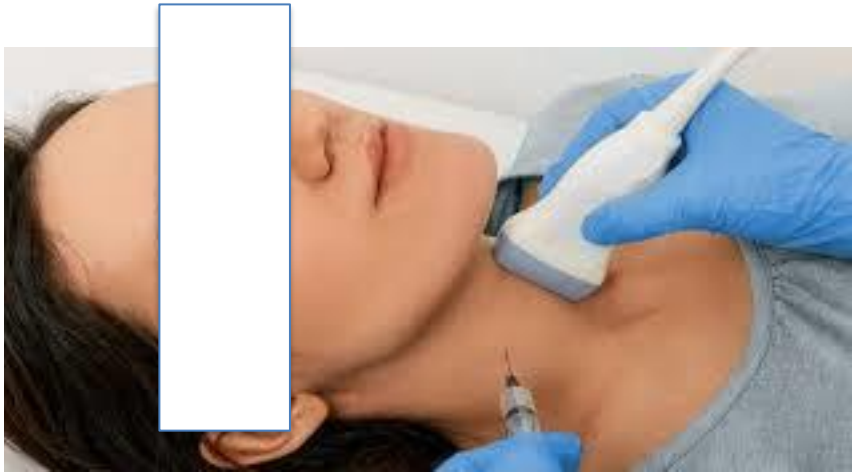
Programma di Screening organizzato

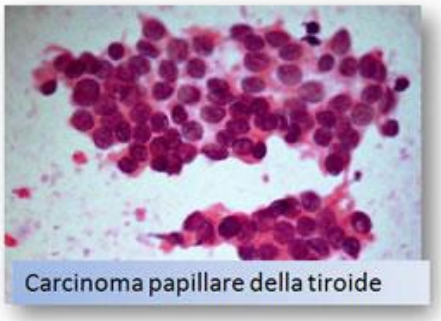
che garantisce un monitoraggio continuo della sua

QUALITA'

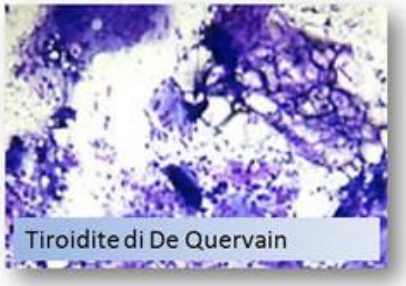
Tiroide













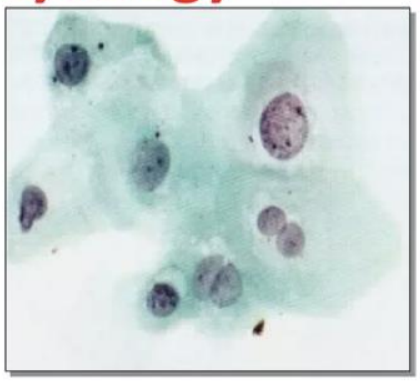
Agoaspirato ed esempi di esami
citologici per le patologie della tiroide

CELL BLOCK
AND
ITS UTILITY IN
CYTOPATHOLOGY

- A cell block is a method of preparing cytologic material so that it can be processed, sectioned, stained, and viewed as a histology section.
- It can provide diagnostic information in addition to that obtained from cytology slides.
- It is easier to do special stains, and immunohistochemistry on cell block slides rather than on regular cytology slides because the slides often require adaptations of the staining protocols and different controls.
- It should be understood that the term 'block' in this context is not a reference to placing the cells in a paraffin block, but rather it refers to the technique of 'blocking' something to hold it together and maintain its shape.

Cell blocks offer the opportunity to examine the histological structure and allows the use of ancillary tests

Cytology

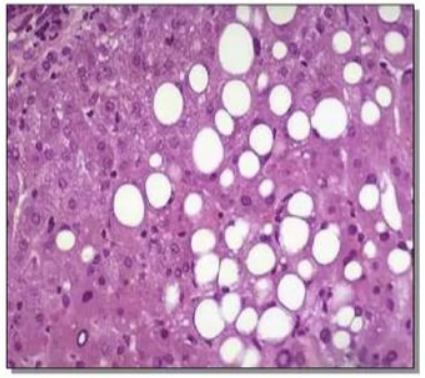


Bridge

(Cell blocks)

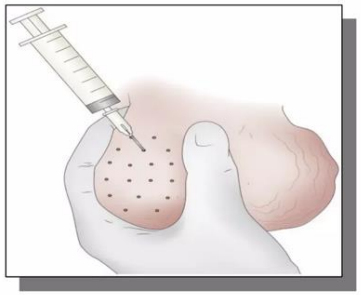


Histopath

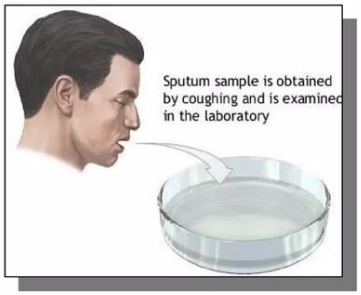


- Acquisition of tissue for cell block can increase both diagnostic sensitivity and specificity (through both cellular morphology and ancillary testing)
- It requires minimal effort and is extremely cost efficient.
- Moreover, tissue preserved in cell block can be readily shared for second opinions and research without fear of losing the original diagnostic smear specimen

Specimens



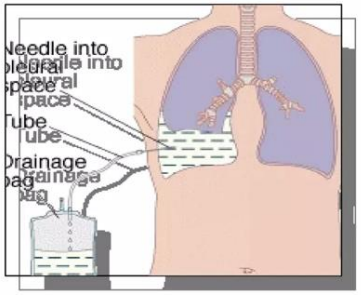
FNAC/FNAB



SPUTUM



URINE



EFFUSION FLUIDS



LAVAGES & WASHINGS

Methods of cell block preparation

1. Direct processing of tissue fragments present in fluids.
2. Plasma thrombin method
3. Fixed sediment method
4. Bacterial agar method
5. Technique using alcohol, acetone and paraffin
6. Compact technique
7. Cell blocks from Millipore
8. Histogel method
9. Gelatin embedding
10. Celloidin bag method
11. Scraping of cytology smears
12. Automated preparation
13. Albumin method.

Fixed Sediment Method

Residual clot /tissue in the hub of the needle or spontaneous clot in a fluid container is carefully removed & rinsed in 50% ethanol/buffered formalin



Centrifuged at 4000rpm for 6min to form pellets



Supernatant is discarded



Sediment is removed and put into filter paper, placed in cassette. & processed as regular paraffin specimen and then stained routinely by H&E

Normal Saline Needle Rinse Method

Commonly used method (FNA)

Rinse the aspirate needle with 20-30 ml saline

centrifugation



discard supernatant



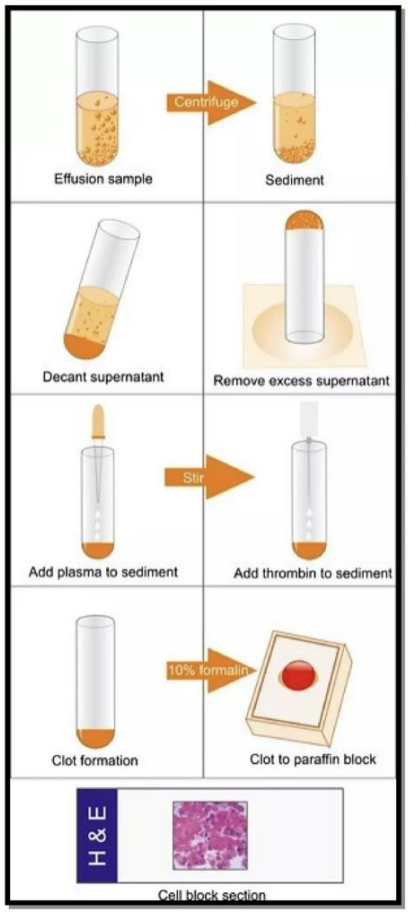
collect the sediment and process routinely

Coagulo di plasma e trombina che impacchetta tutte le cellule

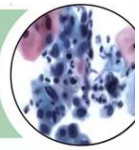
Plasma Thrombin method

Principle : to enmesh the cellular material in a clot.

1. Centrifugation of the cell suspension. Discard the supernatant.
2. For approximately 1 ml of sediment, add 4 drops of plasma.
3. Add 4 drops of Thrombin.
4. Mix with a vortexer or by tapping gently on the counter .
5. Allow the mixture to sit for a few minutes until a soft ball forms.
6. Place this mass into an appropriately labeled cassette.
7. Place the cassette in fixative and submit for processing as tissue.



Advantages of cell block



✓Slides are more readily interpretable by histopathologists.

✓Availability of a block facilitates more sections.

✓Imp residual material is salvaged which is generally not available in cytology smears .Loose cells, cell aggregates and microscopic tissue fragments are easily recoverable.

✓Concentrated in a small area of the slide so examination less time consuming

✓Special stains mucicarmine, congo stain, melanin etc

✓Stains for immunocytochemistry

✓For microorganisms esp fungi and bacteria

✓Pattern and architectural recognition of tumor possibl

✓CB is simple ,reproducible and readily available in routine laboratory

✓No necessity of biopsy

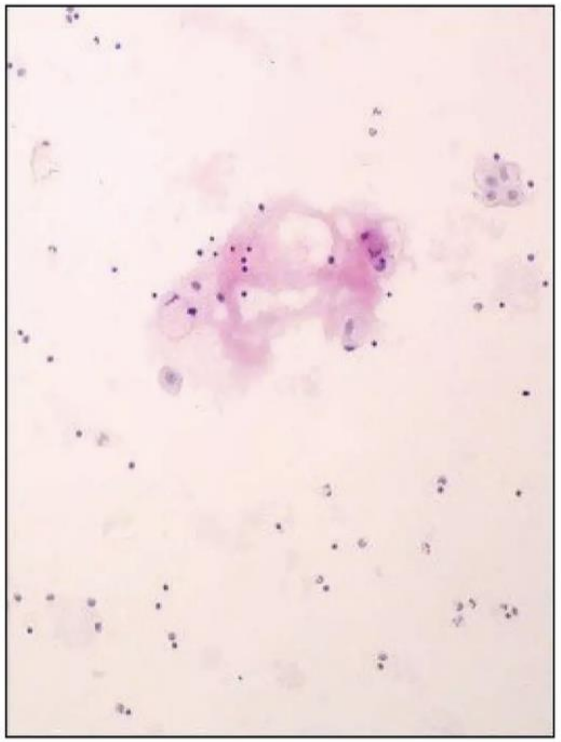
✓Storage of cell blocks is easier than unstained slides

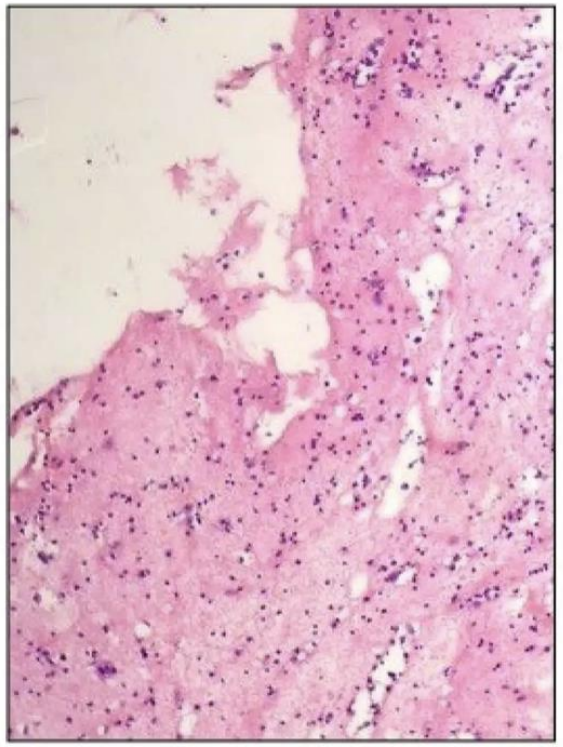
Disadvantages

✓Compared to routine smears takes longer time

✓Sparse cellularity

✓Distortion artifacts





Cytosmears v/s Cell Block

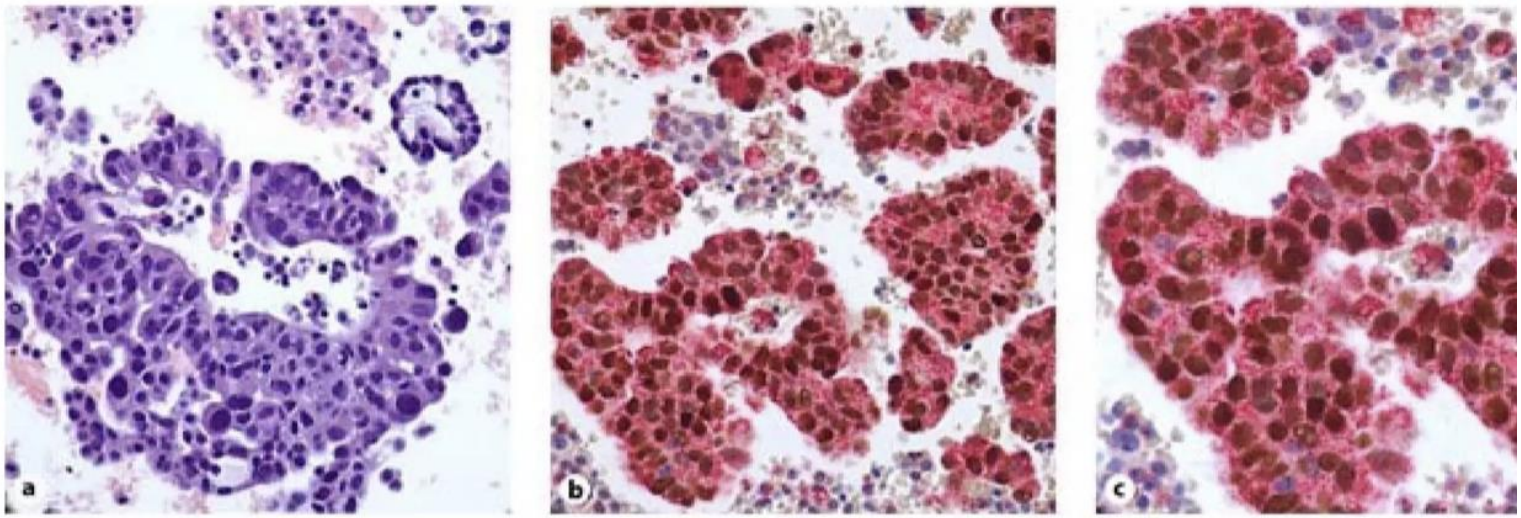
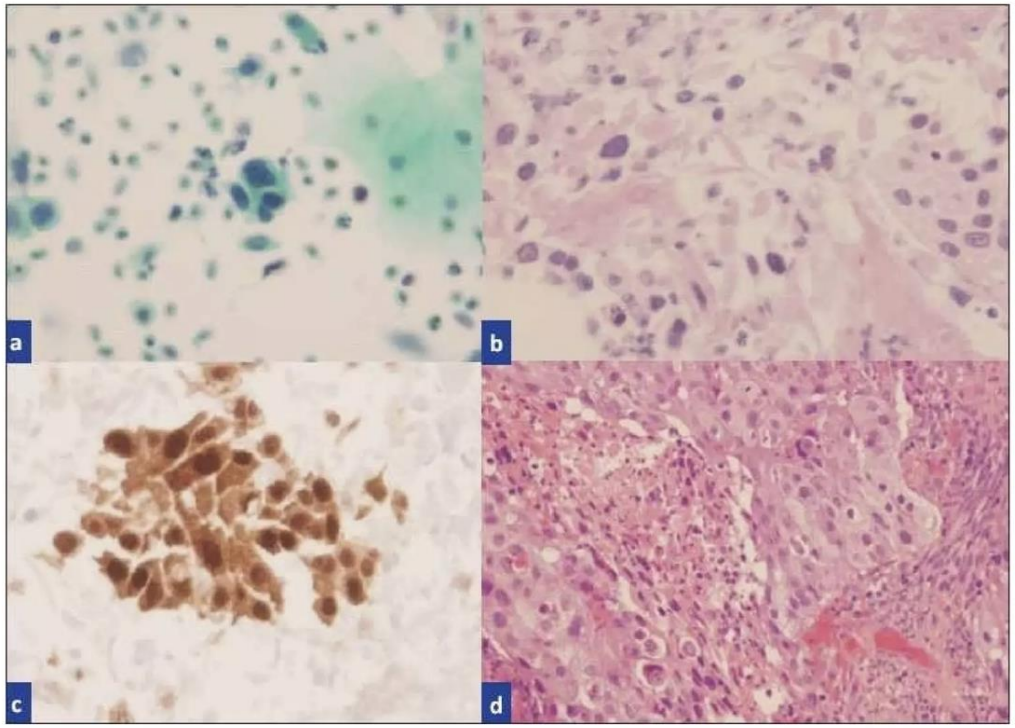
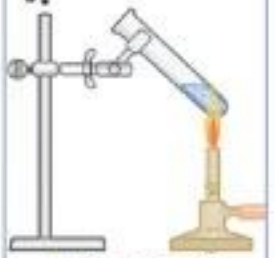
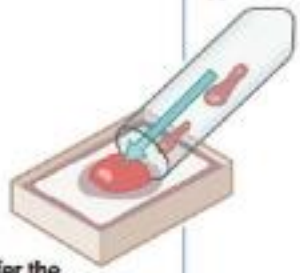


Figure 1: Metastatic lung adenocarcinoma in a cell block of pleural fluid.
a H&E stain showed relatively monotonous tumor cells arranged in tubules. ×400.
b TTF-1/napsin A double stain showed positive brown nuclear TTF-1 and red cytoplasmic napsin A staining in the tumor cells. ×400.
c TTF-1/napsin A double stain. ×600.



a) Pap smear interpreted HSIL,
b) H and E cell block section containing “microbiopsies”,
c) p16-stained cell block section showing true nuclear positivity,
d) biopsy showing invasive squamous cell carcinoma.

Cell Block

1  Fluid sample	2  Centrifuge	3  Sediment forms	4  Decant supernatant	5  Dry excess supernatant over filter paper	6.  Melt HistoGel™ according to manufacturer's instructions *
7  Add a few drops of molten HistoGel™	8  Gently stir with wooden applicator stick or vortex to permit mixing of HistoGel™ with the sediment	9  Cool by refrigerating sediment and HistoGel™ mixture for 5–10 minutes or until solid	10  Transfer the solidified HistoGel™ to tissue processing cassette with tissue paper to wrap with the help of small spatula as needed	11 Fix in 10% formalin	12  Process for paraffin embedding

Summary of Procedure on One Page

STEP-1



Label the Nano Unit

STEP-2



Discard the transport fluid in Nano Unit

STEP-3



Add concentrated specimen to Nano Unit

STEP-4



Centrifuge at 2500 rpm for 3 minutes and discard the supernatant

STEP-5



Add 10% formalin

STEP-6



Centrifuge at 2500 rpm for 3 minutes and discard the supernatant

STEP-7



Dislodge the gel disc into tissue cassette

STEP-8



Cover gel disc with Tissue paper cover

STEP-9



Close the tissue cassette and put in horizontal position in transport container with 10% formalin. Transfer the container for tissue processing.

Tecniche endoscopiche:
broncoscopia con agoaspirato transbronchiale ecoguidato

La broncoscopia con agoaspirato transbronchiale ecoguidato (endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration, EBUS-TBNA)

è una tecnica di staging e sampling mediastinico relativamente nuova, sicura e mininvasiva.

EBUS-TBNA (Ecografia Transbronchiale)

L'EBUS è una nuova tecnologia broncoscopia mininvasiva che grazie ad una sonda ecografica consente:

- la visualizzazione delle strutture centrali mediastiniche
- la visualizzazione del parenchima periferico polmonare, altrimenti non raggiungibili con la broncoscopia tradizionale.

EBUS-TBNA (Ecografia Transbronchiale)

Campi di applicazione:

- nei di tumore del polmone per la valutazione dei linfonodi mediastinici (stadiazione mediastinica)
- per la diagnosi di noduli polmonari periferici,
- per la diagnosi dei linfonodi mediastinici ingranditi e affetti da altre patologie
- per la diagnosi delle patologie benigne polmonari e mediastiniche, dei timomi, della tubercolosi e della sarcoidosi.

L'EBUS-TBNA è inoltre una metodica ideale per ottenere nuove biopsie nei pazienti oncologici per la ricerca delle mutazioni genetiche tumorali che possano guidare le terapie mirate con farmaci biologici.

N.B.!

EBUS-TBNA (Ecografia Transbronchiale)

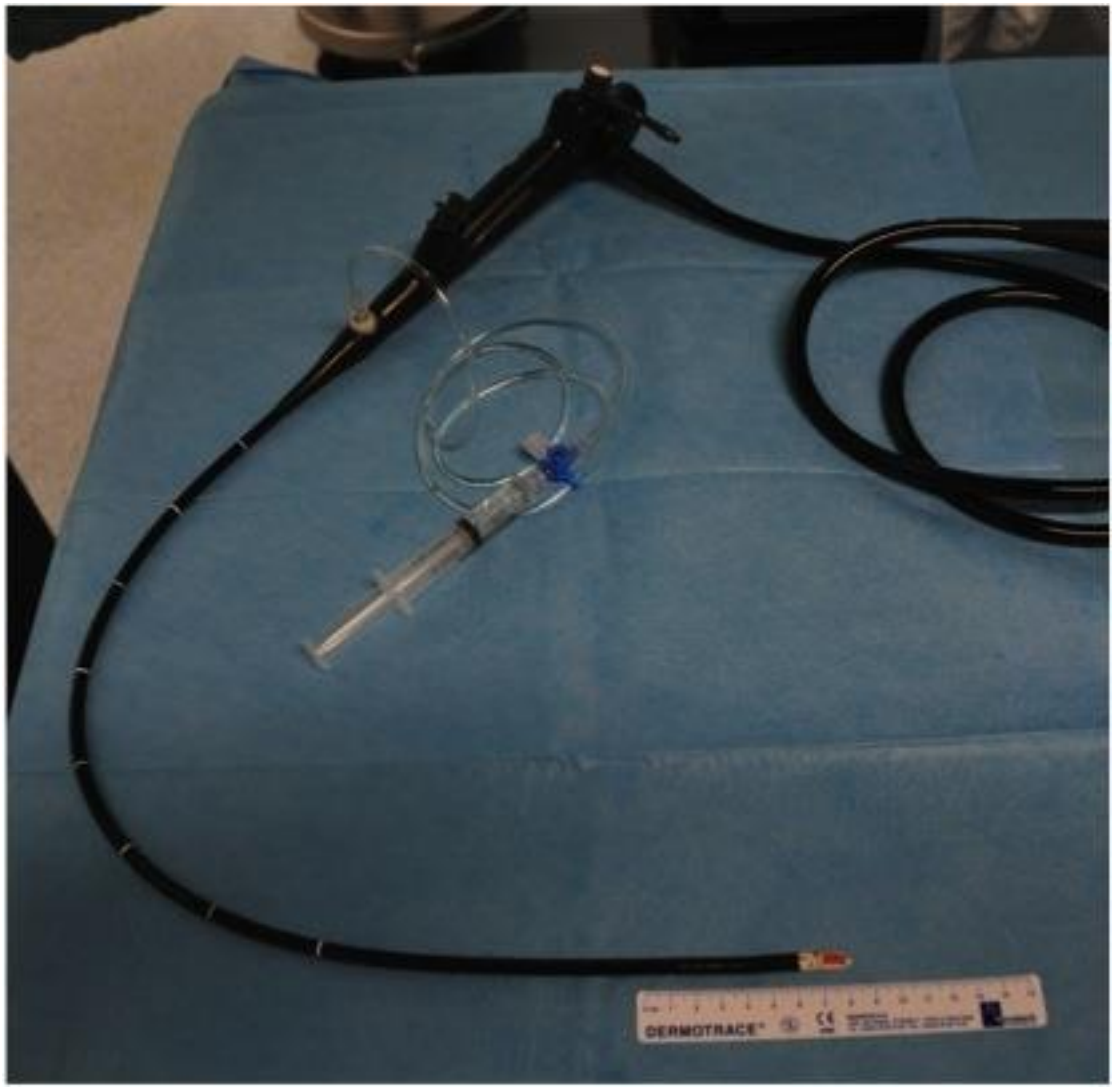
Procedura

Non richiede l'anestesia generale (non richiede l'intubazione) e viene eseguita in sedazione ottimale con l'anestesista, garantendo così il massimo confort e sicurezza ai pazienti.

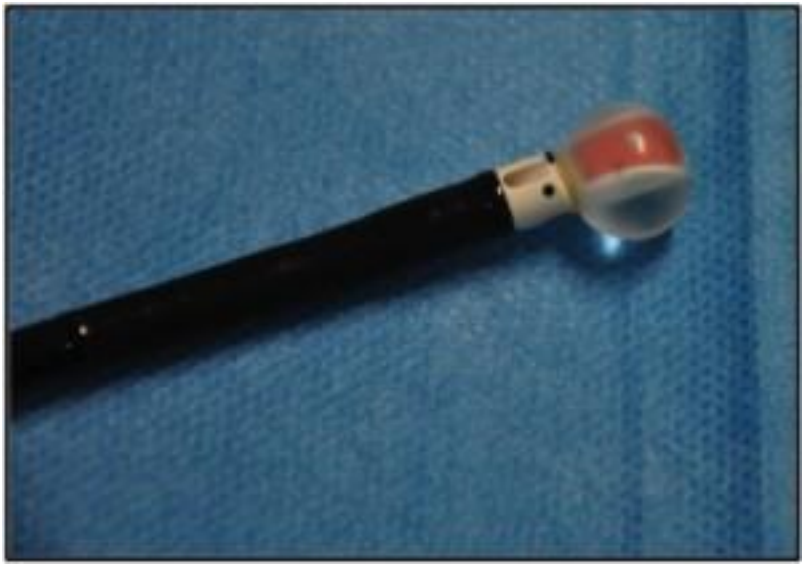
Con l'utilizzo dell'EBUS si aumenta sensibilmente l'accuratezza diagnostica della biopsie trans bronchiali sotto guida fluoroscopia e dell'agoaspirato trans bronchiale che prima dell'avvento di tale tecnica veniva eseguito alla "cieca".

Le broncoscopie con EBUS-TBNA vengono eseguite in collaborazione con l'anatomopatologo in sala endoscopica che fornisce l'adeguatezza immediata del materiale prelevato (ROSE: Rapid on-site Cytologic Evaluation) garantendo la massima diagnostica della procedura.

EBUS Convex Probe



Dettaglio estremità’ con ecografo integrato



EBUS-TBNA, agoaspirato transbronchiale stazione 7

https://vimeo.com/78808874