



	<p>S.C. ANATOMIA PATOLOGICA Direttore: Prof. Renzo Luciano Boldorini Tel 0321.3733.374 Fax 0321.3733.485 E-mail renzo.boldorini@med.unipmn.it</p>	
--	---	--

INDICE		
	PRESENTAZIONE DELLA STRUTTURA	Pag. 2
	LA MISSION	Pag. 2
	ATTIVITA' DI ECCELLENZA	Pag. 2
	Diagnostica istologica: <ol style="list-style-type: none"> 1. Valutazione del linfonodo sentinella nella patologia neoplastica della mammella attraverso metodica istologica tradizionale e dal 2011 mediante tecnica di biologia molecolare OSNA. 2. Valutazione del linfonodo sentinella nel melanoma cutaneo. 3. Centro di riferimento della patologia renale non neoplastica, con particolare riferimento alla trapiantologia. 4. Patologia emopoietica e linfoproliferativa. 5. Patologia polmonare a supporto della Chirurgia toracica e della Pneumologia presenti presso il nostro Ospedale. 6. Neuropatologia oncologica a supporto della Neurochirurgia presente presso il nostro Ospedale. 7. Attività di screening 8. Tecnica chirurgica di MOHS e MOHS modificata Tubingen. 9. Diagnostica istoenzimatica dei difetti di innervazione autonoma intestinale (MORBO DI HIRSCHSPRUNG). 10. Indagini su tessuto in casi sospetti per sindrome di Lynch su tessuto neoplastico 	Pag. 2-6
	Diagnostica citologica: <ol style="list-style-type: none"> 1. citologia per aspirazione con ago sottile 2. citologia di prevenzione 3. citologia esfoliativa 	Pag. 6-8
	Immunoistochimica	Pag. 8
	Patologia molecolare	Pag. 13
	Controlli di qualità	Pag. 15
	ATTIVITA' DI RICERCA E COLLABORAZIONI	Pag. 15
	TEMPI DI ATTESA	Pag. 18
	PROGETTI DI MIGLIORAMENTO	Pag. 18



PRESENTAZIONE DELLA STRUTTURA

Il laboratorio di Anatomia Patologica è una struttura complessa a direzione universitaria, il cui responsabile, dal 2012 è il prof. Renzo Luciano Boldorini.

Opera all'interno del Dipartimento Laboratori dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Maggiore della Carità di Novara.

Afferiscono alla struttura circa 30000 utenti/anno, incluse afferenze dagli Ospedali di Verbania, Aosta, Biella, Vercelli, Borgomanero e Vigevano tramite specifiche convenzioni.

MISSION

Il laboratorio di Anatomia Patologica si occupa dell'attività di diagnostica istologica e citologica tradizionale, e con il supporto di metodiche immunoistochimiche. Tale attività risulta completata e potenziata da settori ad alta specializzazione quali la biologia molecolare, con la garanzia di diagnosi sempre più accurate, fornendo fattori prognostici e predittivi della risposta terapeutica, secondo le attuali richieste specie in campo oncologico.

ATTIVITA' DI ECCELLENZA

Diagnostica istologica

La diagnostica istologica viene effettuata con l'ausilio di colorazioni istologiche ed istochimiche di routine, metodiche immunoistochimiche e tecniche di biologia molecolare.

Nell'ambito di tale diagnostica, il nostro laboratorio garantisce alcune attività di eccellenza:

1. Valutazione del linfonodo sentinella nella patologia neoplastica della mammella attraverso metodica istologica tradizionale e, dal 2011 mediante tecnica di biologia molecolare OSNA.
2. Valutazione del linfonodo sentinella nel melanoma cutaneo.
3. Centro di riferimento della patologia renale non neoplastica, con particolare riferimento alla trapiantologia.
4. Patologia emopoietica e linfoproliferativa.
5. Patologia polmonare a supporto della Chirurgia toracica e della Pneumologia presenti presso il nostro Ospedale.
6. Neuropatologia oncologica a supporto della Neurochirurgia presente presso il nostro Ospedale.
7. Attività di screening
8. Tecnica chirurgica di MOHS e MOHS modificata Tubingen.
9. Diagnostica istoenzimatica dei difetti di innervazione autonoma intestinale (MORBO DI HIRSCHSPRUNG).
10. Indagini su tessuto in casi sospetti per sindrome di Lynch su tessuto neoplastico

1. Linfonodo sentinella nel carcinoma mammario

La tecnica del linfonodo sentinella (LS) nella terapia chirurgica del carcinoma mammario con metodica istologica classica è stata messa a punto presso l'Istituto Europeo di Oncologia ed è diventata procedura standard a livello internazionale nella pratica clinica a partire dal 2003.

Presso il nostro laboratorio è entrata in uso dall'anno 2004.

La metodica del LS si basa sul principio secondo il quale le cellule tumorali che penetrano nel circolo linfatico da un determinato distretto anatomico si localizzano nella prima stazione linfatica di drenaggio denominata appunto "linfonodo sentinella". Così, l'identificazione di tale linfonodo, la sua asportazione e la sua analisi risultano fondamentali nel processo decisionale di ablazione chirurgica dei linfonodi del cavo ascellare, situati a valle del LS: in caso di localizzazione metastatica al linfonodo sentinella infatti non si può escludere che cellule tumorali siano migrate a valle, mentre in caso di negatività, tale ipotesi può essere ragionevolmente esclusa. Ne consegue che, in quest'ultimo caso, ci si può astenere dalla esecuzione della linfadenectomia ascellare, evitando possibili complicanze chirurgiche.

La tecnica si basa sulla inoculazione sottocutanea (nell'area di proiezione cutanea della neoplasia) o intratumorale di una sostanza radioattiva e/o di un colorante vitale che poi migrano, attraverso i linfatici, ai linfonodi regionali.

Le modalità di analisi di LS sono essenzialmente due, quella tradizionale istologica che, come detto risale ai primi anni 2000 e quella molecolare, di più recente introduzione.

Con la prima metodica si applicano protocolli di diagnosi posticipata su materiale fissato in formalina ed incluso in paraffina, che prevedono l'allestimento di numerosi preparati istologici e immunoistochimici, fino ad esaurimento del linfonodo incluso.

Considerato che in caso di negatività dell'indagine istologica tradizionale su preparati colorati con ematossilina/eosina, si richiede un'ulteriore indagine immunoistochimica, un tempo ragionevole di risposta va considerato di almeno cinque giorni lavorativi. Di conseguenza la paziente viene sottoposta ad un primo intervento chirurgico in cui si asporta la neoplasia mammaria e contestualmente il LS; in caso di positività di quest'ultimo, la paziente deve essere richiamata e nuovamente sottoposta ad intervento chirurgico di asportazione del cavo ascellare. Questa metodica quindi, pur accreditata per alta sensibilità e specificità, ha un impatto economico negativo (due interventi con conseguenti degenze) ed è, essendo la risposta dilazionata nel tempo, inevitabilmente fonte di ansia per la paziente.

Con la seconda metodica, indicata come "One Step Nucleic Acid Amplification"(OSNA), è possibile condurre nel corso dell'intervento di asportazione del tumore la contestuale analisi del linfonodo. Tale metodica, introdotta nel nostro laboratorio dal 2011, non consente il riconoscimento morfologico delle cellule neoplastiche, ma, attraverso una procedura molecolare, permette l'analisi quantitativa di RNA messaggero della Citocheratina 19 (CK19), marcatore specifico delle cellule metastatiche del carcinoma mammario su tessuto linfonodale giunto a fresco. La tempistica di questa analisi è di circa 35-40 minuti e può pertanto essere condotta contestualmente all'asportazione del tumore mammario con indubbio vantaggio di tempo, risparmio di eventuale re-intervento e disagio psicologico della paziente. I dati di letteratura indicano una sensibilità e specificità sovrapponibili alla metodica tradizionale.

La tabella sottostante mostra la comparazione tra metodica istologica tradizionale e OSNA per LS di carcinoma mammario

Metodica istologica tradizionale	OSNA
Tempistica di risposta: 5 giorni lavorativi circa	Intraoperatorio: 35-40 minuti
In caso di positività di LS: doppio utilizzo della sala operatoria e doppia anestesia per la paziente	In caso di positività di LS: utilizzo singolo della sala operatoria e unica anestesia per la paziente
Tecnica operatore-dipendente	Tecnica standardizzata
Interpretazione dell'anatomo-patologo	Dato analitico strumentale

La tabella sottostante mostra il numero totale di linfonodi sentinella esaminati in intraoperatoria con tecnica OSNA per anno dal 2011

Anno	2011	2012	2013
Totale linfonodi sentinella in intraoperatoria	147	198	204

2. Linfonodo sentinella del melanoma

In base agli stessi principi sopra esposti per la patologia mammaria, anche nel caso del melanoma cutaneo è possibile andare a valutare lo stato del linfonodo sentinella in modo da decidere, sulla base di esso, l'eventuale dissezione dei linfonodi loco-regionali.

Nel caso del melanoma, i protocolli attualmente in uso prevedono l'utilizzo della metodica istologica e immunoistochimica tradizionale.

Il linfonodo giunge infatti in laboratorio fissato in formalina e viene interamente tagliato in più sezioni lungo l'asse minore e processato.

Il protocollo di taglio prevede, per ciascuna inclusione in paraffina, l'allestimento di 10 sezioni, di cui la prima e la sesta colorate con metodo immunoistochimico con l' anticorpo anti-proteina S100 e tutte le altre colorate con ematossilina-eosina.

Nell'ambito della diagnostica del melanoma sono inoltre disponibili, presso la nostra struttura, tecniche di biologia molecolare per la ricerca di mutazioni dei geni BRAF, N-RAS, c-KIT con valore predittivo di risposta alla terapia.

3. Patologia renale non neoplastica, con particolare riferimento alla trapiantologia

Il Servizio di Anatomia Patologica annovera tra le attività di eccellenza, la patologia renale non neoplastica. Annualmente giungono circa 210 biopsie renali provenienti dai servizi di Nefrologia del nostro Ospedale e dagli Ospedali di Borgomanero, Verbania e Vigevano. La diagnostica nefropatica consta di una valutazione morfologica delle biopsie coadiuvata dalla metodica di immunofluorescenza per la ricerca di depositi glomerulari di catene pesanti delle immunoglobuline e frazioni del complemento. E' inoltre presente la possibilità di una valutazione ultrastrutturale dei campioni, tramite convenzione con il II servizio dell'Anatomia Patologica dell'Ospedale S. Giovanni Battista di Torino.

L'ospedale di Novara è, insieme con l'Ospedale S. Giovanni Battista di Torino, centro di riferimento piemontese per l'esecuzione di trapianti renali. Pertanto la diagnostica nefropatologica comprende anche la valutazione di biopsie di reni trapiantati, allo scopo di valutare eventuale rigetto o insorgenza di altra patologia.

A questo scopo, la componente medica e gli assistenti tecnici garantiscono un servizio di reperibilità diurna (dalle 8 alle 20) anche durante i giorni festivi. Il numero di biopsie su reni trapiantati è di circa 65/anno.

4. Patologia emopoietica e linfoproliferativa

La patologia emopoietica e linfoproliferativa è rappresentata, nella nostra struttura, da materiale istologico di biopsie osteo-midollari (circa 660/anno) e di linfonodi o masse di neoplasie linfoproliferative, asportati in toto o campionati con macrobiopsie. Occasionalmente giungono anche preparati citologici di sospette malattie linfoproliferative. La valutazione di questo tipo di patologia richiede imprescindibilmente, oltre alla valutazione morfologica tradizionale, un ampio spettro di reazioni immunoistochimiche presenti nella nostra struttura. A questo, il nostro laboratorio aggiunge anche la possibilità di una valutazione molecolare del riarrangiamento del gene del TCR-gamma e della clonalità dei riarrangiamenti delle catene pesanti delle immunoglobuline (IgH) mediante PCR.

5. Patologia polmonare

La presenza presso il nostro Ospedale di un servizio di Chirurgia toracica e di Pneumologia, garantisce al laboratorio di Anatomia patologica un ampio spettro di campioni di patologia polmonare: biopsie trans-bronchiali e trans-toraciche, pneumectomie parziali o totali, prelievi in corso di mediastinoscopia e biopsie pleuriche. La diagnostica di patologia polmonare, prevalentemente di tipo neoplastico, si avvale di reazioni immunoistochimiche e di valutazioni molecolari che rispondono alle attuali richieste oncologiche per la valutazione di risposta di una terapia mirata (valutazione di EGFR, ALK e ROS1).

Sono inoltre presenti un discreto numero di biopsie polmonari per valutazione di eventuali interstiziopatie.

6. Neuropatologia oncologica

La Neurochirurgia presente nel nostro Ospedale fornisce all'Anatomia patologica materiale prevalentemente di tipo tumorale. Su di esso, presso il nostro laboratorio, è possibile eseguire l'esame estemporaneo su striscio ed eventualmente al congelatore. Il materiale viene quindi processato generalmente in regime di urgenza, seguendo cioè una via preferenziale che garantisce la diagnosi morfologica in circa 5 giorni lavorativi. Alla diagnostica tradizionale, è possibile affiancare dei fattori prognostici e predittivi di risposta alla terapia tramite tecniche di biologia molecolare, quali: lo stato di metilazione del gene MGMT; la ricerca di mutazioni dei geni IDH1 e IDH2 e LOH del 1p36 e 19q13.

7. La tecnica chirurgica di Mohs (variante diretta)

La tecnica chirurgica di Mohs è un approccio microtopografico alla dermochirurgia atta a verificare la radicalizzazione (n.d.r. escissione completa e radicale) di neoplasie dai limiti poco definibili sulla base solo morfologica.

Tale tecnica viene utilizzata preferenzialmente per neoplasie cutanee non melanocitarie a basso grado di metastatizzazione (prevalentemente basaliomi cutanei), ed è indicata preferenzialmente quando, a causa della sede anatomica di insorgenza, sia necessario ridurre al minimo il quantitativo di tegumento da asportare. Altre indicazioni sono: la valutazione dei margini di resezione nel caso di applicazione di lembi cutanei oppure nel caso di neoplasia recidive su tessuti già precedentemente trattati chirurgicamente o radioterapeuticamente.

In tutti questi casi è di importanza fondamentale una valutazione estemporanea dei margini di resezione che permette di indirizzare l'intervento nel senso di un eventuale ulteriore allargamento, senza bisogno di successivi re-interventi di allargamento. Tale valutazione viene assicurata attraverso un esame al criostato di tutti i margini di resezione.

8. Attività di screening

L'Anatomia patologica è parte integrante dell'attività di screening della popolazione nell'ambito del Progetto Serena:

- Screening I livello del carcinoma colo-rettale per la ricerca di lesioni piatte o polipoidi precursori.
- Screening di II livello del carcinoma della mammella ottenuto tramite effettuazione e valutazione di preparati agoaspirativi e micro-istologici (tru-cut, core-biopsy) di lesioni mammarie riscontrate al controllo mammografico.

9. Diagnostica istoenzimatica dei difetti di innervazione autonoma intestinale (MORBO DI HIRSCHSPRUNG)

La diagnosi della malattia di Hirschsprung (HD) si basa su elementi clinici, strumentali ed istologici. Questi ultimi comprendono:

- valutazione della presenza/assenza dei gangli nervosi parasimpatici nel plesso sottomucoso e/o in quello mioenterico in un tratto di colon di lunghezza variabile, da pochi cm dalla rima anale a tutta l'estensione del colon;
- valutazione della morfologia e grado di maturazione dei gangli;
- valutazione della presenza e distribuzione delle fibre nervose colinergiche;
- valutazione della morfologia e localizzazione del plesso mioenterico.

Salvo casi particolari, tali valutazioni possono essere eseguite su biopsie per suzione, con minimo traumatismo per il paziente, senza anestesia ed in regime ambulatoriale.

Questi prelievi, inviati immediatamente dopo l'esecuzione in appositi contenitori chiusi, con all'interno garza imbevuta di soluzione fisiologica, vengono congelati in ghiaccio secco anidro.

Al momento della processazione, vengono scongelati e orientati su supporti da criostato, in modo che le sezioni comprendano mucosa e sottomucosa e si ricongelino in ghiaccio secco anidro.

La diagnosi certa di HD e di disordini correlati, si basa sull'uso di metodiche di istochimica enzimatica, che forniscono indicazioni certe sulla presenza/assenza e sulla tipologia della lesione. Per questo motivo, si eseguono circa 30 sezioni "a catenella" dello spessore di 16 mm, su ogni vetrino. Dopo asciugatura, si applicano le seguenti colorazioni isto-enzimatiche: ACE (acetil-colinesterasi), LDH (lattico-deidrogenasi), SDH (succinico-deidrogenasi), NADPH (nitrito ossido-sintetasi) e la colorazione istochimica Syrius-Red. Si passa quindi alla valutazione microscopica dei preparati ed alla diagnosi conclusiva.

Nella nostra esperienza, tale metodica è risultata altamente sensibile e specifica, fornendo indicazioni importanti per il trattamento successivo del paziente ed attualmente risulta l'unica in grado di fornire una diagnosi certa sulle patologie da disordini dell'innervazione autonoma intestinale.

10. Indagini su tessuto in casi sospetti per sindrome di Lynch

La sindrome di Lynch o Tumore ereditario del colon-retto non poliposico (HNPCC, Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer) è una forma di predisposizione ereditaria allo sviluppo di tumori dovuta a mutazioni nei geni che codificano per proteine coinvolte nel meccanismo di riparazione del DNA detto Mismatch Repair. Ciò comporta un rischio elevato di sviluppare tumori del colon-retto ed extracolici. La maggior parte dei tumori del colon associati a sindrome di Lynch presenta un fenotipo caratterizzato da instabilità dei microsatelliti e perdita di espressione della proteina codificata dal gene mutato; l'instabilità dei microsatelliti viene valutata con metodiche di biologia molecolare, la perdita di espressione proteica con indagini immunoistochimiche, entrambe su preparati istologici.

I criteri di Bethesda sono stati formulati per selezionare i nuclei familiari da sottoporre ad analisi su tessuto tumorale; dai dati pubblicati in letteratura, tali criteri consentono di identificare il 75-95% delle famiglie con mutazione.

Lo studio su tessuto rappresenta solo una parte del percorso diagnostico in tale patologia, che è fondamentalmente di pertinenza genetica e che quindi necessita di una Consulenza Genetica Oncologica dei pazienti con fenotipo sospetto, che verranno ulteriormente indagati con questionario specifico ed eventualmente con indagini per identificare mutazioni germinali.

Benché venga riportato in letteratura che mutazioni riconducibili alla sindrome di Lynch vengano identificate solo nell'1-2% dei casi di tumore del colon-retto o dell'endometrio, tale reperto consente tuttavia di intraprendere una sorveglianza clinica mirata dei pazienti a rischio al fine di una diagnosi precoce.

Nel nostro Servizio di Anatomia Patologica, questo tipo di indagini su tessuto è iniziato nel 2011. Nel triennio

4/2011-4/2014 sono stati studiati 138 pazienti con l'identificazione di fenotipo sospetto in 36. In 3 di questi casi sospetti, nel Centro di Consulenza Genetica Oncologica è stata identificata una mutazione germinale consistente con sindrome di Lynch.

Diagnostica citologica

Branca dell'anatomia patologica che si occupa della valutazione di organo tramite l'esame di cellule esfoliate spontaneamente o agoaspirate e conseguentemente strisciate su vetrino. Rappresenta una tecnica che associa ad alta sensibilità e specificità, una facile applicabilità e limitata invasività.

La diagnostica citologica è effettuata sia con criteri morfologici, valutabili al microscopio ottico, sia con tecniche di istochimica, immunohistochimica e di biologia molecolare. Nel nostro Servizio comprende 3 aree principali:

- **citologia per aspirazione con ago sottile**, metodica di prelievo effettuata con ago 22-23 G, che consente di ottenere materiale diagnostico di lesioni nodulari superficiali (mammella, tiroide, tessuti molli, ghiandole salivari), attraverso manovra agoaspirativa eco-guidata e di lesioni profonde (polmone e mediastino, fegato, pancreas, ovaio, linfonodi profondi, ecc.) in guida ecografica, fluoroscopica o TAC.

Il patologo esegue di persona il prelievo agoaspirativo sotto guida ecografica di lesioni in sedi superficiali e di neoformazioni epatiche.

Nel caso di lesioni profonde, la manovra agoaspirativa viene eseguita da radiologi o broncoscopisti.

In entrambi i casi, l'Anatomia Patologica fornisce il servizio di valutazione estemporanea on-site dei prelievi citologici. Questo consiste nella presenza, in corso dell'esame, di un patologo o biologo, in grado di valutare immediatamente al microscopio il tipo di prelievo eseguito, tramite una colorazione rapida del materiale prelevato e strisciato su vetrino. Questa valutazione consente una definizione dell'adeguatezza del tessuto esaminato in termini di correttezza di sede del prelievo, di natura e di quantità del materiale prelevato. In questo modo si garantisce l'eventuale immediata ripetizione del prelievo, riducendo drasticamente il numero dei preparati non idonei alla valutazione definitiva. Permette inoltre, nel caso di sospetto neoplastico, di richiedere un arricchimento del materiale prelevato, fondamentale ormai per le analisi biomolecolari necessarie per chiarimenti diagnostici e soprattutto per la pianificazione di approcci terapeutici biologici.

La valutazione on-site è disponibile durante tutti gli ambulatori di citologia ambulatoriali (ecografia tiroidea e senologia) dal patologo che esegue anche il prelievo citologico, e in corso di esami endoscopici. In particolare, nella nostra azienda, è garantita una seduta settimanale con citopatologo presente nell'ambulatorio di broncoscopia per lesioni polmonari e di gastroscopia per lesioni pancreatiche.

- **citologia di prevenzione**, mediante valutazione di materiale citologico prelevato da pazienti sani, ma a rischio di neoplasia; è principalmente rappresentata dalla diagnostica mammaria, effettuata da patologi, nell'ambito dello screening di II livello del **Progetto Serena**. Si tratta cioè dell'agoaspirazione sotto guida ecografica di lesioni mammarie di primo riscontro agli esami radiologici mammografici.

- **citologia esfoliativa**, su campioni cellulari raccolti direttamente (cioè contenenti cellule distaccatesi spontaneamente: espettorato, urina, liquidi di versamento, liquor, secreto mammario, ...) oppure ricorrendo a manovre atte ad asportare le cellule dalla loro sede naturale (abrasione, spazzolamento, lavaggio, ...), mediante lettura effettuata da biologi e da patologi.

Esami citologici e tru-cut mammari eseguiti nel corso degli anni:

	2010	2011	2012	2013
Mammella	564	527	488	642
Tiroide	420	482	565	536
Polmone	87	119	130	378
Linfonodo	31	38	37	32
Gh. salivari	40	63	44	68
Cute	3	1	5	4
Tru-cut	46	33	40	62

Di particolare rilievo è l'applicazione di metodiche molecolari in ambito citologico a fini diagnostici e prognostico-predittivi. In particolare, nell'ambito della citologia tiroidea, la nostra struttura garantisce la ricerca di mutazioni del gene BRAF e di riarrangiamenti del gene RET/PTC nel sospetto di carcinomi papillari della tiroide, e la ricerca di mutazioni dei geni PAX8/PPAR γ per lo screening di lesioni follicolari sospette per malignità.

E' inoltre possibile una valutazione FISH di aneuploidie cromosomiche nel sospetto di neoplasie delle vie biliari e di neoplasia uroteliali e la valutazione dello stato mutazionale di K-ras su materiale agoaspirativo di sospette neoplasie pancreatiche.

Immunoistochimica

E' l'applicazione dei principi e delle metodiche immunologiche che permettono lo studio di cellule e tessuti, soprattutto in ambito oncologico, con scopi diagnostici, prognostici e di misurazione di risposta alla terapia. E' applicabile sia su preparati istologici che su materiale biologico incluso, prelevato per esame citologico. Permette all'anatomo-patologo di chiarire, tramite la valutazione dell'espressione di specifiche proteine, la reale natura di strutture cellulari laddove la pura morfologia risulti insufficiente.

Le attuali maggiori applicazioni diagnostiche dell'immunoistochimica sono nell'ambito della diagnosi differenziale tra neoplasie di diversa istogenesi, nella migliore caratterizzazione di neoplasie appartenenti ad uno stesso gruppo, nella identificazione dell'origine di una metastasi di cui non si conosce il tumore primitivo e nella produzione di dati di utilizzo prognostico e predittivo di risposta terapeutica. L'interpretazione dei risultati è di competenza dell'anatomo-patologo che dispone di una specifica preparazione per questo tipo di attività.

Nella S.C. di Anatomia Patologia si eseguono all'incirca 11.000 test di immunoistochimica all'anno eseguiti con metodi standardizzati grazie all'utilizzo di apparecchiature completamente automatiche (Benchmark XT Ventana – link <http://www.ventanamed.com>) sottoposte a periodiche manutenzioni programmate da parte di tecnici specializzati.

Vengono eseguiti inoltre circa 500 indagini all'anno di Immunofluorescenza diretta (DIF) su tessuti provenienti da biopsie renali e cutanee e indiretta (IIF) su sieri, per la ricerca di immunocomplessi e malattie autoimmuni.

Dal 2012 è stato introdotto la determinazione di EBV (Epstein-Barr Virus) su materiale istologico e citologico con metodo CISH (ibridazione in situ) automatizzato su Benchmark XT Ventana.

Elenco degli anticorpi presenti presso la S.C. di Anatomia Patologica

MARKERS EMOPOIETICI	Cellule normali	Campi di applicazione principali
CD 1a	Linfociti nel timo	Linfomi
CD 2	Linfociti T	Linfomi
CD 3	Linfociti T e NK immaturi	Linfomi
CD 4	Linfociti T-helper, monociti	Linfomi
CD 5	Linfociti T e B naive	Linfomi, linfoma linfocito e mantellare
CD 7	Linfociti T	Linfomi
CD 8	Linfociti T-suppressor, alcuni NK	Linfomi
CD 10	Precursori linfociti B, linfociti B centri germinativi epitelio di tubuli renali, sroma endometriale	Linfomi, linfoma follicolare. Neoplasie renali e rare uterine
CD 15	Granulociti, monociti	Linfoma di Hodgkin
CD 20L26	Linfociti B maturi	Linfomi
CD 21	Cellule dendritiche follicolari(FDC), alcuni linfociti B maturi	Linfomi
CD 23	Linfociti B attivati, monociti, FDC	Linfomi, linfoma linfocitico, leucemia linfatica cronica
CD 25	Linfociti T attivati, linfociti B, macrofagi	Hair cell leukaemia, linfomi T periferici
CD 30	Linfociti B e T attivati, NK, monociti	Linfomi, linfoma di Hodgkin, anaplastico, cutaneo
CD 31	Cellule endoteliali	Neoplasie vascolari
CD 34	Cellule endoteliali, progenitori cellule linfoidi e mieloidi, enteroglia	Leucemie acute, neoplasie vascolari, tumori parti molli, tumori stromali gastrointestinali
CD 38	Plasmacellule, linfociti B dei centri germinativi, linfociti T attivati, monociti, linfociti NK	Linfomi
CD 43	Linfociti T, alcuni B, linfociti NK, monociti, plasmacellule e cellule mieloidi	Linfomi
CD 45LCA	Tutti i Leucociti (LCA) con eccezione delle plasmacellule	Linfomi
CD 56	NCAM, linfociti NK, T attivati, epiteli neuroendocrini, tessuto neurale	Linfomi, neoplasie endocrine o con aspetti endocrini, carcinoma piccole cellule del polmone
CD 57	Linfociti T, alcuni NK, tessuto neurale	Linfomi
CD 68	Monociti, macrofagi, linfociti T attivati	Neoplasie mieloidi o istiocitiche, linfomi
CD 79A	Linfociti B in tutti gli stadi di maturazione dai precursori linea B alle plasmacellule	Linfomi
CD 99	Timociti corticali	Linfomi, sarcoma di Ewing
CD 117	Precursori dell'emopoiesi, elementi della spermiogenesi, oociti, mastociti, cellule intestinali di Cajal	Leucemie acute, seminomi, disgeminomi, tumori stromali gastrointestinali (GIST)
CD 138	Plasmacellule (del midollo osseo)	Mieloma plasmacellulare
ALK1	nessuna	Linfoma anaplastico a grandi cellule T

bcl 6	Linfociti B di centri germinativi (fattore di trascrizione espresso dopo incontro con un antigene)	Linfomi, in particolare linfoma follicolare e linfoma diffuso a grandi cellule B
DBA44	nessuna	Hair cell leukaemia, linfomi non-Hodgkin
Mieloperossidasi	Linfociti B di centri germinativi (fattore di trascrizione espresso dopo incontro con un antigene)	Linfomi, in particolare linfoma follicolare e linfoma diffuso a grandi cellule B
MUM1	Cellule B del centro germinativo	Linfomi
Catene Kappa	Plasmacellule, alcuni linfociti B	Mieloma plasmacellulare, MGUS, linfomi
Catene Lambda	Plasmacellule, alcuni linfociti B	Mieloma plasmacellulare, MGUS, linfomi
Fattore VIII	Cellule endoteliali e megacariociti	Lesioni vascolari, valutazione della megacariopoiesi in biopsie del midollo osseo
Glicoforina A	Cellule eritroidi in tutte le fasi di differenziazione	Valutazione dell'eritropoiesi in biopsie del midollo osseo
TdT	Cellule del tipo II e cellule di Clara dei polmoni e cellule follicolari della tiroide	Neoplasie polmonari e della tiroide
PAX 5	Linfociti B a tutti gli stadi di maturazione	Linfomi

FILAMENTI INTERMEDI E DEL CITOSCHELETRO	Cellule normali	Campi di applicazione principali
ActinaHHF35	Actina muscolo-specifica	Sarcomi
Actina 1A4	Muscolatura liscia, fibroblasti	Neoplasie delle parti molli, valutazione di strutture mioepiteliali
CK AE1/AE3 (cocktail)	Cellule epiteliali	Carcinomi, ricerca di micrometastasi (linfonodo sentinella)
CK HMW		
CK LMW		
CK 5/6	Epitelio squamocellulare, mesotelio, cellule mioepiteliali	Mesotelioma, carcinoma mammario, carcinoma prostatico
CK 7	Epitelio soprattutto del tratto genitale femminile, dotti biliari	Carcinoma dell'utero e dell'ovaia, valutazione di biopsie epatiche
CK 20	Urotelio normale, epitelio dell'intestino	Adenocarcinoma del colon
CK 19	Epitelio di dotti pancreatici e biliari	Adenoarcinoma duttale del pancreas
Desmina	Muscolatura liscia e striata	Neoplasie miogene
EMA	Muscolatura liscia e striata	Neoplasie miogene
GFAP	Astroцитi, cellule mioepiteliali	Neoplasie gliali e neoplasie di ghiandole salivari
Neurofilamenti	Neuroni e processi assonali del SNC e SNP	Neuroblastomi, tumori carcinoidi
Vimentina V9	Cellule mesenchimali	Neoplasie delle parti molli

ENZIMI	Cellule normali	Campi di applicazione principali
1antichimotr	Istiociti e cellule reticolari	Patologie da accumulo epatico, tumori cutanei e a cellule granulose
Lisozima		
NSE	Neuroni della corteccia cerebrale, nuclei del tronco cerebrale, cellule endocrine	Tumori contenenti o derivati dai neuroni, cellule gangliari e nervi periferici. Neoplasie neuroendocrine
PLAP	Placenta	Tumori germinali del testicolo e dell'ovaia

ANTIGENI TUMORE ASSOCIATO	Cellule normali	Campi di applicazione principali
Ca 125	Ghiandole endometriali e della cervice uterina normali. Epitelio ovarico.	Neoplasie dell'utero e dell'ovaia
ERCC1		Valore predittivo di risposta terapeutica nei carcinomi spinocellulari del polmone
BerEP 4	Tessuti epiteliali. Non viene espresso nel mesotelio	Neoplasie epiteliali, la maggior parte degli adenocarcinomi. Utile per escludere un mesotelioma

ANTIGENI TESSUTO SPECIFICO	Cellule normali	Campi di applicazione principali
Cromogranina	Cellule mesenchimali	Neoplasie delle parti molli
Hepatocyte	Epatociti	Carcinomi epatocellulari
Melanosoma HMB45	Melanociti	Melanoma, ricerca di micrometastasi (linfonodo sentinella)
Melanoma Triple Cocktail (HMB45+A103+T311)	Melanociti	Lesioni melanocitiche maligne, ricerca micrometastasi (linfonodo sentinella)
MART-1/Melan A	Melanociti	Melanoma
PSA	Epitelio prostatico	Adenocarcinoma della prostata
Sinaptofisina	Cellule neuroendocrine	Neoplasie neuroendocrine
Tireoglobulina	Cellule tiroidee follicolari	Neoplasie della tiroide
TTF1	Cellule del tipo II e cellule di Clara dei polmoni e cellule follicolari della tiroide	Neoplasie polmonari e della tiroide
C4d	Frazione del complemento	Ricerca attività immunologica nei trapianti
CDX 2	Proteina CDX-2 (cellule epiteliali intestinali)	Adenocarcinomi con differenziazione intestinale

ANTIGENI ONCOFETALI	Cellule normali	Campi di applicazione principali
---------------------	-----------------	----------------------------------

αFP	Fegato fetale, tratto gastrointestinale, sacco vitellino	Neoplasie epatiche, ovariche e del testicolo
CEA	Epitelio del colon normale	Adenocarcinoma del colon, adenocarcinoma della cistifellea

ANTIGENI INFETTIVI	Cellule normali	Campi di applicazione principali
CMV	Non espresso	Tessuti infettati da Citomegalovirus
HBcAg	Non espresso	Nucleo di epatociti infettati da Virus dell'epatite B (antigene core)
HBsAg	Non espresso	Citoplasma e membrana di epatociti infettati da Virus dell'epatite B (antigene di superficie)
Pneumocystis C.	Non espresso	Infezioni respiratorie
Sv40 poli	Non espresso	Tessuti infettati

ORMONI, RECETTORI ORM E PROTEINE ASSOCIATE	Cellule normali	Campi di applicazione principali
βHCG	Sinciziotrofoblasto nella placenta del primo trimestre	Neoplasie del testicolo
HPL		Classificazione dei tumori ipofisari
ACTH		Classificazione dei tumori ipofisari
FSH		Classificazione dei tumori ipofisari
HGH		Classificazione dei tumori ipofisari
LH		Classificazione dei tumori ipofisari
PRL		Classificazione dei tumori ipofisari
TSH		Classificazione dei tumori ipofisari
Recettore Estrogeno (ER)	Cellule dei dotti galattofori e di ghiandole mammarie, alcune cellule endometriali, ovariche e miometrali	Carcinomi mammari
Recettore Progestinico (PR)	Cellule dei dotti galattofori e di ghiandole mammarie, alcune cellule endometriali, ovariche e miometrali	Carcinomi mammari
Calcitonina	Cellule C della tiroide	Carcinoma midollare della tiroide, altri carcinomi neuroendocrini
Paratormone	Paratiroidi	

ANTIGENI ASSOCIATI ALLA PROLIFERAZIONE	Cellule normali	Campi di applicazione principali
Ciclina D1	Cellule in proliferazione (ad esempio strato basale di epitelio squamocellulare)	Linfoma mantellare (sovraespressa per traslocazione specifica coinvolgente il corrispondente gene)

Ki67	Cellule in proliferazione	Neoplasie dei tessuti molli, carcinomi della mammella, linfomi
MLH1	Cellule in proliferazione (enzima di riparazione del DNA)	Carcinoma del colon, carcinoma dell'endometrio
MSH1	Cellule in proliferazione (enzima di riparazione del DNA)	Carcinoma del colon, carcinoma dell'endometrio
MSH6	Cellule in proliferazione (enzima di riparazione del DNA)	Carcinoma del colon, carcinoma dell'endometrio
PMS2	Cellule in proliferazione (enzima di riparazione del DNA)	Carcinoma del colon, carcinoma dell'endometrio

ONCOPROTEINE	Cellule normali	Campi di applicazione principali
bcl 2	Linfociti B soprattutto della zona mantellare di un linfonodo, linfociti T	Linfomi e di rare neoplasie delle parti molli quali sarcoma sinoviale e tumori a derivazione miofibroblastica
p53	Proteina p53, di solito non sovraespressa	Neoplasie con mutazione del gene p53
p63	Cellule basali	Carcinoma della prostata, carcinoma mammario

ALTRI MARKERS	Cellule normali	Campi di applicazione principali
S100	Cellule di Langerhans, melanociti della cute, cellule neurali, cellule mioepiteliali	Melanomi, neoplasie dei nervi periferici
Calretinina	Neuroni, retina, cellule di Sertoli e di Leydig, stroma ovario, mesotelio	Mesoteliomi e neoplasie ovariche o testicolari
PGP 9.5	Cellule neuroendocrine	Neoplasie neuroendocrine

Laboratorio di Patologia Molecolare dell'Anatomia Patologica.

Il laboratorio di Patologia Molecolare nasce nel 1999 con finalità di ricerca clinica; dal 2002 è iniziata l'attività di diagnostica molecolare applicata alla clinica, attraverso la identificazione di genoma di Polyomavirus umani (BKV, JCV ed SV40) nei trapiantati di rene. Nel corso degli anni l'attività si è progressivamente diversificata per soddisfare nuove esigenze diagnostiche e prognostico-predittive di varie neoplasie solide ed ematologiche. Ciò ha determinato un sensibile aumento del numero di prestazioni, sia in valore assoluto sia in termini percentuali rispetto alle attività di diagnostica cito-istologica, come si evince dalla tabella

Anno	2010	2011	2012	2013
Totale molecolari	664	1044	1208	1511

Oggi inoltre il Laboratorio di Patologia Molecolare è collocato in una struttura nuova che ci consente di effettuare:

- una attività di biologia molecolare e citogenetica con la presenza di strumentazioni moderne ed avanzate
- ricerca applicata, come evidenziato da numerose pubblicazioni scientifiche su riviste di prestigio

internazionale.

- attività didattica, il personale del laboratorio è assistente del Prof. Boldorini alla didattica di Anatomia Patologica nei corsi di laurea di Tecniche Sanitarie di Laboratorio Biomedico e Biotecnologie Mediche. All'interno del laboratorio è presente un'aula didattica munita di un microscopio collegato a monitor dove si svolgono conferenze clinico-patologiche e lezioni seminariali per Specializzandi.
- attività di tirocinio formativo per studenti di Biotecnologie mediche, Medicina e Chirurgia, Scienze Biologiche e Tecniche diagnostiche di Laboratorio, con possibilità di effettuare tesi di Laurea.

Il Laboratorio rappresenta il riferimento Regionale per le attività di diagnostica molecolare del Piemonte Orientale (centro di riferimento per gli ospedali di Biella, Vercelli, Borgomanero, Verbania) e di Aosta, ed inoltre è inserito nelle reti Nazionali FASTnet e AKTIVE. Questi programmi consentono ai Centri Oncologici italiani di spedire campioni di tessuto tumorale in selezionati laboratori di biologia molecolare per l'identificazione delle mutazioni dei geni EGFR e KRAS di significato clinico.

La sezione di Patologia Molecolare si focalizza sia su attività di diagnostica, sia su attività di ricerca applicata alla diagnostica molecolare:

1. si ricercano i seguenti virus e batteri: Polyomavirus umani ed SV40, Papillomavirus (HPV), Mycobacterium tuberculosis, micobatteri atipici, Bartonella Spp, Dirofilarie e Helicobacter Pylori mediante metodiche di biologia molecolare. In particolare:
 - estrazione del DNA da tessuto paraffinato e/o fresco
 - amplificazione genica della zona di interesse mediante nested/PCR
 - visualizzazione su gel d'agarosio
 - digestione enzimatica
 - tecnica di ibridazione in situ fluorescente su biopsie gastriche pediatriche per quanto riguarda la ricerca di Helicobacter Pylori resistenti alla claritromicina
2. si ricercano alterazioni cromosomiche (traslocazioni, amplificazioni, delezioni) mediante la tecnica di biologia molecolare/citogenetica ibridazione in situ fluorescente (FISH) su tessuti paraffinati, strisci e/o apposizioni, in particolare:
 - **amplificazioni** sui seguenti geni: Her2/neu (17q12) nel carcinoma mammario e gastrico, ROS1 nel carcinoma del polmone
 - **traslocazioni** quali: t(14;18) nella diagnosi di linfoma follicolare, t(11;14) nella diagnosi di linfoma mantellare, ALK nel carcinoma al polmone
 - **delezioni** sui seguenti geni: 1p36 e 19q13 negli oligodendrogliomi
 - **aneuploidie**: sonde centromeriche sui cromosomi 3-7-17 e sonda cosmidica 9p21 nella diagnosi di colangiocarcinoma a partire da brushing delle vie biliari e carcinoma transazionale della vescica partendo da urine.
3. Diagnosi mirata e target therapy, in particolare:
 - Sui carcinomi coloretali metastatici: RAS test ove si ricercano mutazioni del gene K-RAS sull'esone 2 mediante Therascreen, ove si utilizzano due tecnologie la ARMS (allele mutation specific) e la Scorpions (ove il primer è legato in modo covalente alla sonda marcata con fluorescenza) per la dimostrazione di mutazioni in Real Time PCR, e tecnica del sequenziamento diretto per la ricerca di mutazioni di KRAS sugli esoni 3 e 4 e del gene NRAS esoni 2, 3 e 4, inoltre il sequenziamento è utilizzato per la ricerca di mutazioni del gene BRAF.
 - Sugli adenocarcinomi del polmone: ricerca di mutazioni del gene EGFR in particolare sugli esoni 18, 19, 20, 21 mediante Therascreen in Real Time PCR e traslocazioni o riarrangiamenti mediante tecnica FISH sul gene ALK (vedi sopra).

- Sui gliomi cerebrali: stato di metilazione del gene MGMT mediante elettroforesi capillare e ricerca di mutazioni dei geni IDH1 e IDH2 mediante sequenziamento diretto.
- Sui melanomi: ricerca di mutazioni del gene BRAF, NRAS, C-KIT mediante sequenziamento diretto
- Sui GIST: ricerca di mutazioni del gene C-KIT mediante sequenziamento diretto
- Sui carcinomi della tiroide: ricerca di mutazioni del gene BRAF mediante sequenziamento automatico e riarrangiamenti del gene RET/PTC mediante analisi di frammenti nei carcinomi papillari della tiroide, mentre ricerca di mutazioni dei geni PAX8/PPARγ mediante sequenziamento per identificazione dei carcinomi follicolari.

4. Ausilio nella diagnosi dei disordini linfoproliferativi:

- Valutazione del riarrangiamento del gene del TCR-gamma e valutazione della clonalità dei riarrangiamenti delle catene pesanti delle immunoglobuline (IgH) mediante PCR semi-nested e analisi mediante sequenziatore automatico.

Per alcune di queste attività il laboratorio si avvale di una convenzione con la Fondazione Edo ed Elvo Tempia sita a Biella.

Controlli di qualità.

Il laboratorio di Patologia Molecolare, essendo centro di riferimento, ha superato numerosi **controlli di qualità** esterni (VEQ) ed interlaboratori nazionali ed internazionali, per quanto concerne

- 1) marcatori molecolari in tumori solidi: EGFR, KRAS, HER2, BRAF, ALK, recentemente anche RAS.
- 2) identificazione di virus/batteri: HPV

Controlli di qualità inter-laboratori:

- BRAF
- KRAS

Sono inoltre previste due riunioni semestrali di aggiornamento con colleghi di altri Laboratori di Biologia Molecolare Diagnostica (Azienda Ospedaliero-Universitaria di Varese, Candiolo, Azienda Ospedaliera di Legnano, Laboratorio Oncologia Molecolare Fondazione Edo ed Elvo Tempia di Biella, e Istituto Cantonale dei Tumori di Locarno).

ATTIVITA' DI RICERCA E COLLABORAZIONI

Il laboratorio di Anatomia Patologica svolge inoltre una intensa attività di ricerca: collabora infatti sia con i reparti ospedalieri sia con personalità di prestigio di fama internazionale che fruttano numerose pubblicazioni su riviste internazionali con impact factor.

Sono inoltre possibili delle collaborazioni internazionali a scopo scientifico con periodi di stage presso strutture estere: nell'anno 2012 una dottoranda di ricerca ha frequentato presso la struttura della University of Hawai'i, Cancer Center, a Honolulu, dove ha svolto studi sullo sviluppo del mesotelioma.

Principali filoni di ricerca:

- Identificazione di sequenze genomiche di Merkel cell polyoma virus in tessuti autoptici.
- Valutazione dello stato mutazionale delle proteine coinvolte nelle vie di trasduzione del segnale a valle di EGFR nel mesotelioma pleurico maligno.

- Analisi mutazionale del gene di EGFR mediante metodica molecolare ad alta sensibilità su campioni citologici di adenocarcinoma del polmone.
- Determinazione dello stato mutazionale di KRAS in campioni primitivi di adenocarcinoma colico e relative metastasi.
- Stato mutazionale del gene KRAS negli adenocarcinomi pancreatici.

Principali pubblicazioni:

1: Borgogna C, Lanfredini S, Peretti A, De Andrea M, Zavattaro E, Colombo E, Quaglia M, Boldorini R, Miglio U, Doorbar J, Bavinck JN, Quint KD, de Koning MN, Landolfo S, Gariglio M. Improved detection reveals active β -papillomavirus infection in skin lesions from kidney transplant recipients. *Mod Pathol*. 2014 Jan 3. doi: 10.1038/modpathol.2013.240. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24390217.

2: Boldorini R, Allegrini S, Tognon M, Miglio U, Rossi D, Pawlita M, Viscidi R. Merkel cell carcinoma arising in inguinal lymph node in a patient with von Willebrand disease after multiple blood transfusions. *J Clin Virol*. 2014 May;60(1):73-5. doi: 10.1016/j.jcv.2014.02.007. Epub 2014 Feb 24. PubMed PMID: 24630954.

3: De Dosso S, Zanellato E, Nucifora M, Boldorini R, Sonzogni A, Biffi R, Fazio N, Bucci E, Beretta O, Crippa S, Saletti P, Frattini M. ERCC1 predicts outcome in patients with gastric cancer treated with adjuvant cisplatin-based chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013 Jul;72(1):159-65. doi: 10.1007/s00280-013-2181-2. Epub 2013 May 5. PubMed PMID: 23645290.

4: Mezzapelle R, Miglio U, Rena O, Paganotti A, Allegrini S, Antona J, Molinari F, Frattini M, Monga G, Alabiso O, Boldorini R. Mutation analysis of the EGFR gene and downstream signalling pathway in histologic samples of malignant pleural mesothelioma. *Br J Cancer*. 2013 Apr 30;108(8):1743-9. doi: 10.1038/bjc.2013.130. Epub 2013 Apr 4. PubMed PMID: 23558893; PubMed Central PMCID: PMC3668472.

5: Huhtamo E, Lambert AJ, Costantino S, Servino L, Krizmancic L, Boldorini R, Allegrini S, Grasso I, Korhonen EM, Vapalahti O, Lanciotti RS, Ravanini P. Isolation and full genomic characterization of Batai virus from mosquitoes, Italy 2009. *J Gen Virol*. 2013 Jun;94(Pt 6):1242-8. doi: 10.1099/vir.0.051359-0. Epub 2013 Mar 20. PubMed PMID: 23515020.

6: Boldorini R, Mercalli F, Oderda G. Eosinophilic oesophagitis in children: responders and non-responders to swallowed fluticasone. *J Clin Pathol*. 2013 May;66(5):399-402. doi: 10.1136/jclinpath-2012-201253. Epub 2013 Feb 7. PubMed PMID: 23393202.

7: Pinato DJ, Mauri FA, Lloyd T, Vaira V, Casadio C, Boldorini RL, Sharma R. The expression of Axl receptor tyrosine kinase influences the tumour phenotype and clinical outcome of patients with malignant pleural mesothelioma. *Br J Cancer*. 2013 Feb 19;108(3):621-8. doi: 10.1038/bjc.2013.9. Epub 2013 Jan 29. PubMed PMID: 23361052; PubMed Central PMCID: PMC3593571.

8: Allegrini S, Antona J, Mezzapelle R, Miglio U, Paganotti A, Veggiani C, Frattini M, Monga G, Balbo P, Boldorini R. Epidermal growth factor receptor gene analysis with a highly sensitive molecular assay in routine cytologic specimens of lung adenocarcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2012 Sep;138(3):377-81. doi: 10.1309/AJCPVAGIUC1AHC3Y. PubMed PMID: 22912354.

9: Ravanini P, Huhtamo E, Ilaria V, Crobu MG, Nicosia AM, Servino L, Rivasi F, Allegrini S, Miglio U, Magri A, Minisini R, Vapalahti O, Boldorini R. Japanese encephalitis virus RNA detected in *Culex pipiens* mosquitoes in Italy. *Euro Surveill.* 2012 Jul 12;17(28). pii: 20221. PubMed PMID: 22835438.

10: Molinari F, Felicioni L, Buscarino M, De Dosso S, Buttitta F, Malatesta S, Movilia A, Luoni M, Boldorini R, Alabiso O, Girlando S, Soini B, Spitale A, Di Nicolantonio F, Saletti P, Crippa S, Mazzucchelli L, Marchetti A, Bardelli A, Frattini M. Increased detection sensitivity for KRAS mutations enhances the prediction of anti-EGFR monoclonal antibody resistance in metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2011 Jul 15;17(14):4901-14. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-3137. Epub 2011 Jun 1. PubMed PMID: 21632860.

11: Boldorini R, Paganotti A, Sartori M, Allegrini S, Miglio U, Orsello M, Veggiani C, Del Piano M, Monga G. Fluorescence in situ hybridisation in the cytological diagnosis of pancreatobiliary tumours. *Pathology.* 2011 Jun;43(4):335-9. doi: 10.1097/PAT.0b013e32834642c0. PubMed PMID: 21519286.

12: Boldorini R, Allegrini S, Miglio U, Paganotti A, Cocca N, Zaffaroni M, Riboni F, Monga G, Viscidi R. Serological evidence of vertical transmission of JC and BK polyomaviruses in humans. *J Gen Virol.* 2011 May;92(Pt 5):1044-50. doi: 10.1099/vir.0.028571-0. Epub 2011 Feb 9. PubMed PMID: 21307224.

13: Boldorini R, Allegrini S, Miglio U, Paganotti A, Veggiani C. Detection, distribution, and pathologic significance of BK virus strains isolated from patients with kidney transplants, with and without polyomavirus-associated nephropathy. *Arch Pathol Lab Med.* 2009 May;133(5):766-74. doi: 10.1043/1543-2165-133.5.766. PubMed PMID: 19415951.

14: Sartori M, Andorno S, Pagliarulo M, Rigamonti C, Bozzola C, Pergolini P, Rolla R, Suno A, Boldorini R, Bellomo G, Albano E. Heterozygous beta-globin gene mutations as a risk factor for iron accumulation and liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Gut.* 2007 May;56(5):693-8. Epub 2006 Nov 29. PubMed PMID: 17135308; PubMed Central PMCID: PMC1942129.

15: Capra M, Nuciforo PG, Confalonieri S, Quarto M, Bianchi M, Nebuloni M, Boldorini R, Pallotti F, Viale G, Gishizky ML, Draetta GF, Di Fiore PP. Frequent alterations in the expression of serine/threonine kinases in human cancers. *Cancer Res.* 2006 Aug 15;66(16):8147-54. PubMed PMID: 16912193.

16: Boldorini R, Veggiani C, Turello E, Barco D, Monga G. Are sequence variations in the BK virus control region essential for the development of polyomavirus nephropathy? *Am J Clin Pathol.* 2005 Aug;124(2):303-12. PubMed PMID: 16040304.

Collaborazioni internazionali.

- Michele Carbone. University of Hawai'i, Cancer Center, Honolulu, Hawai'i
- Milo Frattini. Istituto Cantonale di Patologia, Locarno, Svizzera
- Raphael Viscidi. Johns Hopkins Medical School, Baltimora, Maryland, USA
- Eili Huhtamo. Department of Virology, Haartman Institute, Faculty of Medicine, University of Helsinki, Helsinki, Finland
- Kamel Khalili. School of Medicine, Temple University, Philadelphia, Pennsylvania




TEMPI DI ATTESA

ATTIVITA'	TEMPI
diagnosi istologica	8 gg lavorativi
diagnosi citologica di ago aspirati	5 gg lavorativi
diagnostica molecolare	10 gg lavorativi

PROGETTI DI MIGLIORAMENTO

- Riduzione dei tempi di attesa di refertazione per agoaspirati mammella e percorso diagnostico privilegiato per le neoplasie mammarie (compresi marcatori prognostico-predittivi).
- Introduzione sistema di tracciabilità e controllo dei cicli di lavorazione come garanzia di migliore qualità diagnostica.
- Implementazione dei controlli di qualità per la diagnostica immunoistochimica, FISH e tecniche di indagine molecolare.

Redatto: Prof. Renzo Boldorini	Verificato e Approvato: Prof. Renzo Boldorini Direttore SC Anatomia Patologica	Data emissione: Novara, 30/04/2014	Stato: Rev. 0 – ANNO 2014	
STS_Anatomia Patologica 140430.doc			Pag. 18 di 18	