



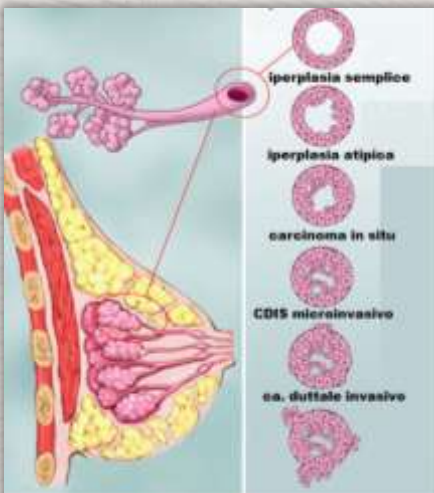
**“LA MULTIDISCIPLINARIETA’ DEL TECNICO SANITARIO DI LABORATORIO BIOMEDICO DURANTE I PROCESSI DI DIAGNOSI, PROGNOSI E CURA DEL CARCINOMA MAMMARIO”**

**PROCEDURE E TEMPISTICHE DI ALLESTIMENTO**

Casani S.<sup>1</sup>, Negri G.<sup>2</sup>, Levetti S.<sup>3</sup>, Martinello V.<sup>4</sup>, Quaranta A.<sup>4</sup>, Fantini C.<sup>1</sup>, Cau I.<sup>1</sup>, Tandelle A.<sup>1</sup>, Russo S.<sup>1</sup>, Modesti G.<sup>1</sup>  
1) ASUFC Udine, 2) AOUFE, 3) ASLCN2 Verduno, 4) Cro di Aviano.

**INTRODUZIONE**

Il carcinoma della mammella (BC) è il tumore che con più frequenza viene diagnosticato nelle donne in Italia. La sopravvivenza dipende da molti fattori, tra cui: il tipo di tumore, il grado istologico, lo stadio della malattia e le terapie intraprese. La mortalità, invece, è in costante diminuzione grazie al miglioramento delle metodologie di screening, all’affinamento delle tecniche chirurgiche e radioterapiche, ai progressi registrati in campo farmacologico.



**FIGURA 1.** Epitelio normale e BC invasivo.<sup>1</sup>

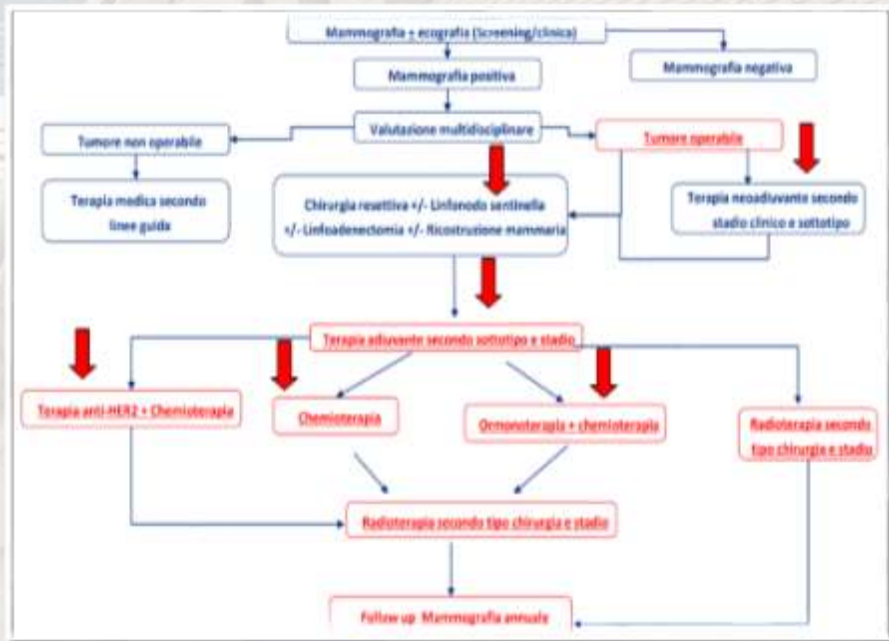
La pandemia da SARS-CoV-2, ha determinato un calo delle nuove diagnosi dovuto all’interruzione degli screening oncologici e al rallentamento delle attività diagnostiche, causando, in alcuni casi, uno shift da forme precoci verso forme più avanzate. **(FIGURA 1)** Il percorso diagnostico terapeutico assistenziale (PDTA) di soggetti affetti da BC, richiede un’elevata specializzazione a tutti i livelli e necessita, pertanto, di personale dedicato. All’interno di questo percorso svolge la sua attività la figura del Tecnico Sanitario di Laboratorio Biomedico (TSLB).

**OBIETTIVO**

L’obiettivo di questo lavoro è quello di mettere in evidenza la professionalità e le competenze del TSLB, nel processo di diagnosi, prognosi e cura del BC, la cui attività si esplica nell’ambito di discipline diverse **(FIGURA 2)**:

- 1. Anatomia Patologica** (immunoistochimica);
- 2. Biologia Molecolare** (diagnostica molecolare);
- 3. Laboratorio Analisi** (chimica clinica ed ematologia);
- 4. Farmacia Oncologica** (manipolazione farmaci antineoplastici).

Inoltre, si vogliono valutare e confrontare: le modalità operative, i tempi di allestimento e ricostituzione dei farmaci nelle Unità Farmaci Antiblastici (UFA) di ASLCN2, ASU FC e CRO di Aviano.



**FIGURA 2.** Flow Chart: PDTA per tumore operato della mammella.<sup>2</sup>

**MATERIALI E METODI**

**1. Anatomia Patologica.** Il TSLB utilizza l’immunoistochimica (IHC) diagnostica e la colorazione istologica per localizzare nel tessuto bioptico specifici antigeni, tramite l’utilizzo di un immunocoloratore automatizzato, che permette di eseguire più colorazioni in contemporanea, in condizioni standardizzate. L’IHC si basa sul riconoscimento di un determinato antigene definito marker tumorale, presente o meno nel tessuto da esaminare, mediante l’utilizzo di un anticorpo specifico.

Per verificare la presenza di cellule cancerogene nel BC vengono utilizzati:

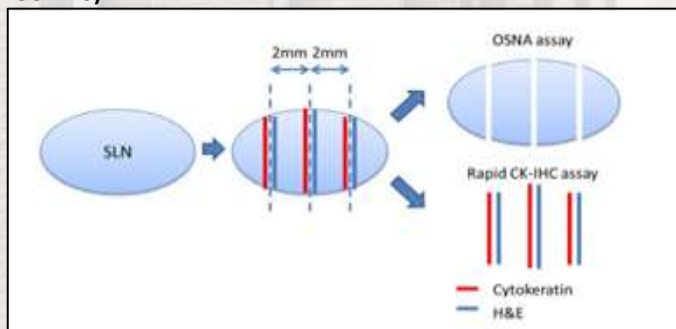
- Marker di proliferazione cellulare (Ki67);
- Recettori per ormoni steroidei (ER, PgR);
- Marker di aggressività tumorale (HER2);
- Recettore di membrana (PD-1).

Nella pratica clinica, la valutazione immunohistochimica dello stato dei recettori ormonali, Ki67 e HER2, permette di identificare in maniera surrogata i seguenti sottogruppi fenotipici di BC, che presentano una “relativa” corrispondenza con i derivati dai profili di espressione genica:

- Luminali A;
- Luminali B/HER2 negativi;
- Luminali B/HER2 positivi;
- HER2 Positivi (non luminali);
- Triplo-negativo (TNBC).

A seconda del tipo di fenotipo viene richiesta una terapia antineoplastica mirata.

**2. Biologia Molecolare.** Il TSLB utilizza l’amplificazione in singola fase degli acidi nucleici (**OSNA**) per analizzare il linfonodo sentinella (**SLN**). Tale metodica costituisce il gold standard, perché automatizzata, standardizzabile e ha una valenza diagnostica certificata. In alcune realtà vengono utilizzate le metodiche di colorazione tradizionali come l’ematossilina-eosina (**H&E**) e la citocheratina-19 (**CK-19**) (**FIGURA 3**).



**FIGURA 3.** Preparazione del SLN: le metodiche a confronto.<sup>3</sup>

Con la metodica OSNA si definiscono le tre categorie diagnostiche in base al numero di copie di CK19 (cCP/μl):

- <250 → linfonodo negativo (-);
- tra 250 e 4999 → micro-metastasi (+);
- ≥ 5000 → macro-metastasi (++)

**3. Laboratorio Analisi.** Il TSLB effettua un pannello di esami ematochimici, che consentono all’oncologo la valutazione delle condizioni cliniche del paziente, prima dell’inizio di ogni ciclo di chemioterapia. La analisi ematochimiche sono completamente automatizzate e standardizzate.

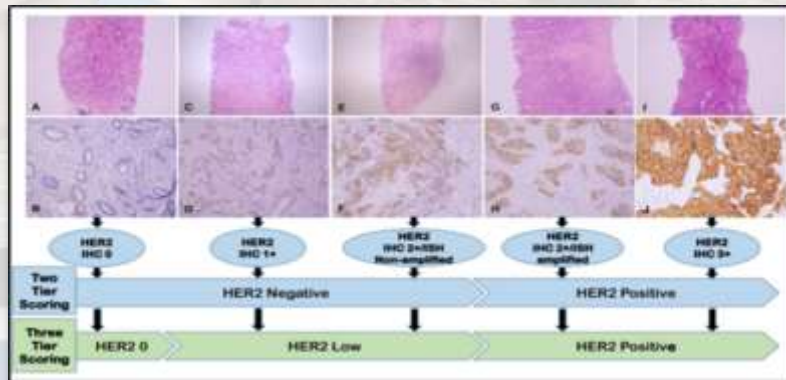
**4. Farmacia Oncologica.** Il TSLB, opera in stretta collaborazione con i farmacisti, responsabili in “vigilando” dell’allestimento. Effettua la preparazione delle terapie oncologiche in cappa a flusso laminare verticale o in isolatore. Utilizza adeguati dispositivi di trasferimento, che limitano l’ingresso di contaminanti ambientali nei preparati e che prevengono la fuoriuscita di aerosol. Il TSLB segue procedure dettagliate e validate a garanzia di qualità, efficacia e sicurezza del prodotto finito e dell’operatore. Le tempistiche di allestimento possono variare in quanto dipendono dallo strumento utilizzato (cappa o isolatore), dalle modalità operative individuali, pur rispettando quanto indicato nelle schede tecniche dei medicinali.

## RISULTATI

**1. Anatomia Patologica.** L’utilizzo dell’immunocoloratore automatizzato, consente al TSLB la riduzione dei tempi di esecuzione delle colorazioni, a fronte di quelle manuali IHC e H&E, che richiedono il rispetto delle tempistiche, previste nei vari step.

Per l’IHC, tuttavia, risulta complesso il dosaggio iniziale dei tempi di incubazione degli anticorpi da utilizzare nella colorazione. Effettuata tale «messa a punto», la metodica è standard e richiede tempi di incubazione dell’anticorpo utilizzato tra i 5 e i 15 minuti.

I vetrini vengono successivamente interpretati dall’anatomo-patologo (**FIGURA 4**).



**FIGURA 4.** Differenza di score tra HER -, + o dubbio. H&E e IHC a confronto.<sup>4</sup>



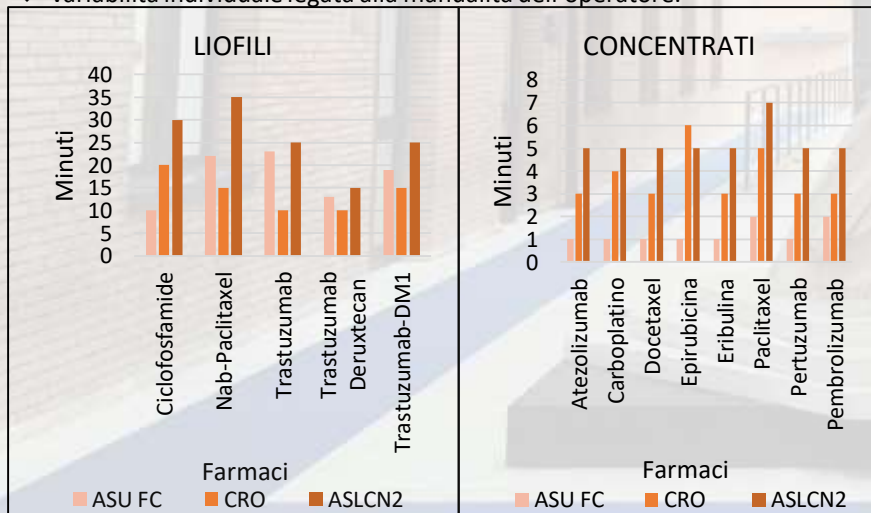


**2. Biologia Molecolare.** L'utilizzo della tecnica OSNA prevede tempistiche di circa 35-40 minuti, di cui 23 legati all'operatività dello strumento, 15 per la preparazione di un singolo SNL, aumentati a 30 per l'analisi di 14 SNL.

**3. Laboratorio Analisi.** Prima dell'inizio del trattamento chemioterapico devono essere effettuati esami ematochimici completi per la valutazione della riserva midollare e le funzionalità d'organo: emocromo con formula, sodiemia, potassiemia, creatinemia, azotemia, transaminasi, bilirubinemia. I tempi di risposta variano tra i 15 e i 30 minuti, dall'arrivo del campione in laboratorio.

**4. Farmacia Oncologica.** Le tempistiche di allestimento dei farmaci antineoplastici sono risultate differenti nelle tre UFA esaminate e riguardano: l'utilizzo dell'isolatore che, rispetto alle cappe a flusso laminare verticale rallenta i tempi di allestimento, in quanto la manipolazione dei farmaci, avviene tramite guanti alloggiati sul vetro frontale della camera di lavoro, che limitano i movimenti dell'operatore; modalità operative diverse: **(FIGURA 5)**

- ❖ utilizzo di agitatori meccanici per dissoluzione dei liofilizzati (↑ tempo);
- ❖ preparazione di antracicline in bolo (↓ tempo);
- ❖ preparazione di antracicline in sacca (↑ tempo);
- ❖ variabilità individuale legata alla manualità dell'operatore.



**FIGURA 5.** Tempistiche di allestimento, espresse in minuti, per ognuno dei farmaci liofili e concentrati presi in esame nelle tre UFA.

## CONCLUSIONI

Il PDTA del BC, costituisce un esempio di come il TSLB sia responsabile nei vari settori di attività, essendo una figura formata e qualificata sia in ambito universitario che specialistico.

L'utilizzo di strumentazioni automatizzate, inoltre, consente di fornire prestazioni standardizzate, certificate e riproducibili, anche in termini di tempistiche di esecuzione (es. immunocoloratore e OSNA).

L'acquisizione di tecnologie robotiche, per le UFA, potrebbe ridurre la variabilità individuale andando così a migliorare la performance e la sicurezza del prodotto e dell'operatore, certificando l'intero processo di allestimento.

Concludendo, il TSLB, ha acquisito un'elevata autonomia tecnico-professionale, misurandosi quotidianamente con tecnologie in continua evoluzione e avendo un ruolo sempre più attivo anche nel campo della profilazione genomica e dei test genetici, su cui si basa l'oncologia di precisione.

## BIBLIOGRAFIA/SITOGRAFIA

<sup>1</sup>[https://www.reteoncologiaropi.it/wpcontent/uploads/2021/08/ROPI\\_Quaderno\\_Carcinom\\_a-mammario-Metastatico-Triplo-Negativo\\_def.pdf](https://www.reteoncologiaropi.it/wpcontent/uploads/2021/08/ROPI_Quaderno_Carcinom_a-mammario-Metastatico-Triplo-Negativo_def.pdf)

<sup>2</sup><https://pathways.nice.org.uk/pathways/early-and-locally-advanced-breast-cancer>

<sup>3</sup>H. Shigematsu at all Comparison of CK-IHC assay on serial frozen sections, the OSNA assay, and in combination for intraoperative evaluation of SLN metastases in breast cancer CrossMark 2018.

<sup>4</sup>H. Zhang Y. Peng Current Biological, Pathological and Clinical Landscape of HER2-Low Breast Cancer MDPI 2022.

S. Levetti P88 Caratterizzazione di tipo biologico del medulloblastoma dell'età adulta. P. 37 2° Congresso nazionale FNO TSRM e PSTRP 2021.

<https://www.sysmexpartec.it/prodotti/oncologia/rilevamento-molecolare-di-metastasi-linfonodali-osna.html>

Raccomandazione n. 14, ottobre 2012.

Provvedimento 5 agosto 1999.

C. Fantini at all Riorganizzazione della gestione del flusso di lavoro all'interno delle UFA: come ottimizzare risorse e tempistiche di allestimento. Congresso naz. SIFaCT 2022.