

Practical Tips nella diagnostica equina: tecniche biottiche cito-istologiche, parte 1

Cute e annessi / Linfonodi / Midollo / Muscoli

Lo sviluppo dell'ecografia nella clinica ippiatrica negli ultimi anni, agevolata dal notevole miglioramento tecnologico degli ecografi portatili e dalle sempre più innovative tecniche biottiche per i vari apparati, rendono la diagnostica cito-istologica sempre più agevole, anche per gli organi interni, solitamente poco accessibili per questi animali di grandi dimensioni. Vediamo in dettaglio le varie metodiche, quali apparati possiamo prendere in esame e come trattare i campioni per inviarli in modo corretto al laboratorio ottimizzando le possibilità diagnostiche.

PRINCIPI GENERALI

Sono possibili due tecniche di base per il prelievo di tessuti: una prevede la biopsia tramite punch o bisturi di parti di materiale patologico (biopsia incisionale - escissionale se si asporta tutta la formazione di interesse), l'altra permette il prelievo di piccole quantità di tessuto tramite ago o tru-cut e si utilizza per accedere a organi interni, formazioni delicate o poco accessibili (ago-aspirato o ago-infissione).

Metodica per la biopsia incisionale / escissionale:

- preparare l'area interessata con apposita disinfezione

- infiltrare l'area con un piccolo "bottone" sottocutaneo di lidocaina al 2%
- è utile avvalersi dell'ausilio di un ecografo nella scelta della zona di interesse
- prelevare la porzione di tessuto prescelta con un normale bisturi, una forbice o una pinza biottica
- immergere rapidamente il materiale raccolto in formalina al 5%.

Nel caso in cui ci siano dubbi su come inviare un campione istologico particolarmente "grande", chiedere al laboratorio la corretta procedura da seguire.

È sempre possibile eseguire anche un esame citologico per impressione o un batteriologico, rispettivamente allestendo velocemente uno striscio su vetrino o effettuando un tampone con terreno di trasporto, ovviamente il tutto prima di immergere il tessuto in formalina.

Metodica di ago-aspirazione o ago-infissione

Questa metodica si utilizza in caso di piccoli noduli o organi delicati in cui un taglio esteso potrebbe causare emorragie, danneggiare il tessuto o provocare lesioni funzionali gravi (pneumotorace, emorragie

renali ed epatiche, distruzione di piccole formazioni).

- Utilizzare: un normale ago (14/16 ma anche 20 gauge) collegato ad una siringa da 10-20 ml (ago-aspirazione) o il solo ago (ago-infissione, per masse molto piccole o delicate) oppure un tru-cut.

- Infiggere l'ago nella massa prescelta ridirezionandolo più volte, senza mai lasciare la localizzazione da esaminare e effettuare 2-3 aspirazioni decise con la siringa oppure pungere con il solo ago in varie direzioni e estrarlo o ancora inserire il tru-cut e spingere lo stantuffo asportando in questo modo una porzione un po' più corposa di tessuto.

In caso di organi interni è indicato utilizzare un ecografo con una sonda adatta (convex o microconvex anche senza guida) per direzionare correttamente l'ago/il tru-cut in corrispondenza delle lesioni di interesse, evitando i grossi vasi ed eventuali danni funzionali (pneumotorace). L'uso dell'ecografo è consigliato specialmente per le biopsie renale, epatica, linfonodale e di masse addominali oltre che per la biopsia endometriale (quest'ultima non per la sua esecuzione, possibile anche "alla cieca", ma per completare l'anamnesi e per escludere un'eventuale gravidanza).

- Con la semplice punzione prelevare all'interno dell'ago il materiale cellulare che deve essere poi strisciato prontamente su vetrino o immerso in formalina nel caso del tru-cut (questo permette l'asportazione di una maggior quantità di tessuto).

Con la metodica di ago-aspirazione il materiale non deve essere visibile

all'interno della siringa, ma solo presente nell'ago. Inoltre si deve evitare di aspirare sangue o liquidi.

- Prima di togliere l'ago dalla massa bisogna rilasciare lo stantuffo della siringa per evitare che la pressione negativa e il flusso d'aria danneggino le cellule tirate troppo velocemente verso lo stantuffo stesso.

- Per strisciare il materiale bisogna staccare l'ago, riempire la siringa di aria e spruzzare quindi le cellule su un vetrino.

- Lo striscio deve essere fatto asciugare rapidamente, può essere strisciato ulteriormente se il materiale è abbondante e verrà colorato presso il laboratorio con le colorazioni più adatte al caso

- Se si aspirano delle cisti o delle masse ripiene di liquido con poche cellule, quest'ultimo deve essere centrifugato (800 rpm per 3 - 5 minuti) e il pellet risospeso e deposto su vetrino tramite pipettrice (1-2 microlitri) o prelevato e strisciato per rotolamento tramite cytobrush.

Vediamo ora nel dettaglio come e quale tecnica bioptica utilizzare per ogni apparato.

BIOPSIA CUTANEA

Si tratta di un apparato facile da raggiungere per effettuare un esame istologico. Vi sono però alcune differenze da tenere presente e varie metodiche utilizzabili: spazzolamento, raschiato cutaneo, punch, biopsia incisionale od escissionale.

Tutte queste tecniche permettono di effettuare prelievi di tessuto a varie profondità:

- se sono presenti bolle o croste, meglio utilizzare un cytobrush (spazzolamento) o una lama di bisturi (raschiato)
- per lesioni di cute e sottocute, utilizzare un apposito punch biotico
- per lesioni profonde, usare un bisturi e delle forbici

Non aspettare che la lesione cronicizzi, perché in questi casi la cute si ispessisce e cheratinizza, rendendo difficoltoso il prelievo di materiale diagnostico

Procedura:

- selezionare la zona, cercando di comprendere una parte di cute lesa, una parte intermedia e una parte sana
 - non lavare o disinfettare, perché si corre il rischio di eliminare parti cutanee importanti
 - spazzolare o raschiare la parte – nel secondo caso fino a provocare un leggero sanguinamento
 - applicare il punch, premere ruotandolo finché lo strumento taglia e scolla la porzione di cute interessata
- oppure tagliare con la lama del bisturi una porzione ellittica, scollando il sottocute con delle forbici per prelevare il pezzo prescelto
- immettere la porzione di tessuto in formalina al 5%, avendo cura di non schiacciarlo od accartocciarlo

- chiudere se necessario la porzione di cute con dei punti
- strisciare il materiale su vetrino per il prelievo effettuato con lama o cytobrush.

BIOPSIA DI NODULI, CISTI e LINFONODI

In questi casi si può utilizzare sia la metodica di ago-infissione, ago-aspirato o quella escissionale con rimozione completa della formazione patologica.

Si ricorda di non congelare i tessuti da sottoporre ad esame istologico e di effettuare un tampone con medium al momento della raccolta se si desidera effettuare anche un esame batteriologico.

Chiedete sempre al laboratorio per ulteriori esami come PCR o ricerche particolari: potrebbe essere necessario mandare delle piccole porzioni di tessuto in soluzione fisiologica per approfondimenti.

BIOPSIA DEL MIDOLLO

Nel cavallo questo esame appare indispensabile per la diagnostica delle patologie del sistema ematopoietico in quanto raramente le cellule patologiche si ritrovano in circolo (linfosarcomi, leucemie, anemie autoimmuni, etc.). La biopsia del midollo osseo andrebbe sempre abbinata ad un esame emocromocitometrico con conta cellulare per una diagnosi esaustiva.

Metodica:

- si consiglia una sedazione leggera e l'utilizzo di guanti sterili
- si infiltra con lidocaina al 2% sottocute e periostio in un'area di circa 2 cm di diametro in corrispondenza della 4° - 5° sternebra (il midollo è appena sotto il periostio)
- attenzione alla punta del cuore che è appena sotto l'apice delle sternebre
- nei soggetti giovani è utilizzabile anche la cresta tibiale o la tuberosità dell'anca
- rasare la parte e disinfettarla accuratamente
- effettuare una piccola incisione con il bisturi e con un apposito stiletto trocar passare il periostio, avanzando lo strumento con movimento rotazionale nel midollo
- una volta prelevato il materiale, immergerlo in formalina al 5%.

Inviare al laboratorio il contenitore con formalina, la provetta con sangue in EDTA e lo striscio ematico del medesimo soggetto.

BIOPSIA MUSCOLARE

Per la diagnostica delle patologie muscolari sono possibili due punti di prelievo:

- per la PSSM si utilizza il muscolo semimembranoso (ricordiamo che per la diagnosi di questa patologia disponiamo di un apposito test genetico)
- per la Equine Motor Neuron Disease o EMND meglio prelevare l'area di muscolo alla base della coda.

Metodica:

- la sedazione non è sempre necessaria, potrebbe bastare un'infiltrazione sottocutanea di lidocaina al 2%, avendo cura di non infiltrare il muscolo (in questo modo si creerebbero artefatti)
- rasare e disinfettare la parte, utilizzando guanti sterili
- incidere e scollare la cute, esteriorizzare il muscolo e prelevare una porzione dello stesso di 5x20x5 mm, rimanendo paralleli alle fibre muscolari
- prelevare la fibra e immergerla nel contenitore con formalina al 5% evitando che si accartocci, si pieghi o che venga schiacciata
- chiudere la breccia con uno o più punti.

Per la biopsia dei muscoli del dorso, difficili da esteriorizzare, è possibile utilizzare uno stiletto tru-cut con la medesima metodica che si utilizza per la biopsia degli organi parenchimatosi.