

## **Asma equina: BAL e TW (lavaggio broncoalveolare e tracheal wash)**

**Dott.ssa Susanna Mereghetti**

Per asma equina si intende una sindrome che comprende una serie di sintomi clinici caratterizzati da broncospasmo, tosse, produzione di muco, infiammazione, innescati da antigeni ambientali volatili che vengono in contatto con le vie aeree.

L'eziologia è prettamente allergica e le terapie utilizzate sono generalmente sintomatiche (broncodilatatori, cortisonici, soluzioni iposensibilizzanti, controllo ambientale degli allergeni, etc.). È una patologia considerata incurabile, tuttavia con un'ottimale gestione è possibile tenerla sotto controllo, con prognosi buona per il soggetto colpito e anche per la sua carriera sportiva.

Vengono definiti tre tipi di asma equina: la forma lieve, quella moderata e la forma grave, che si diversificano per frequenza e gravità degli episodi. L'eziopatogenesi di queste forme invece è la medesima.

Vediamo quali sono gli esami di laboratorio adatti ad un corretto inquadramento di questa affezione, requisito indispensabile per ottimizzare la gestione.

### **Eziopatogenesi dell'asma equina**

I soggetti colpiti sono di solito adulti, il meccanismo patogenetico coinvolge il sistema immunitario sia con una reazione allergica (di tipo I ritardato e di tipo III) che con una reazione di tipo infiammatorio: sono implicate pertanto le IgE, le mast-zellen e l'istamina come pure i complessi antigene-anticorpo, con un effetto di amplificazione molto efficiente. L'iperreattività allergica è solitamente mediata dall'esagerata produzione di IgE che si legano alle mast-zellen ed ai basofili,

scatenando la liberazione di istamina, leucotrieni, citochine e tutta una serie di amine vasoattive responsabili del broncospasmo oltre che del richiamo di linfociti, basofili ed eosinofili nel lume bronchiale. Questa cascata innesca successivamente un'infiammazione neutrofilica cronica delle vie aeree che porta a frequenti recidive della sintomatologia, danneggiando nel corso degli anni in modo permanente l'apparato bronco-alveolare. I soggetti predisposti sembrano reagire in modo ritardato all'esposizione degli allergeni cui sono particolarmente sensibili, fatto che causa una specie di accumulo degli stessi sulle mucose che potrebbe in ultimo spiegare l'esagerata risposta che si scatena successivamente e ripetutamente nel tempo. Sembra esserci una certa predisposizione genetica sia per il sesso (sono maggiormente colpite le femmine) che per alcune linee di sangue.

### **Ruolo delle IgE**

Sebbene la risposta allergica appaia generalmente mediata da immunoglobuline del tipo E, non è però emerso un legame clinico chiaro tra il livello di questi anticorpi nel sangue di pazienti allergici e le manifestazioni cliniche del soggetto colpito, ovvero non troviamo una linearità tra il livello di IgE ematico e la gravità dei sintomi: questo succede perché le reazioni allergiche sono mediate anche da una reattività di tipo cellulare e le vie attraverso cui si estrinseca questa reazione sono complesse e differenti per ogni soggetto colpito.

Questo è il motivo principale per cui i test allergici ematologici, che misurano le IgE nel sangue del soggetto preso in esame, possono offrire una certa variabilità di risultati, a secon-

da della reattività predominante del paziente (quindi anche soggetti con sintomatologia molto evidente possono avere livelli di IgE non particolarmente elevati). La **misurazione delle IgE viene effettuata nei test** in quanto questo permette il successivo allestimento di una **soluzione iposensibilizzante** che agisce proprio modulando la produzione delle IgE stesse, secondo un meccanismo di tolleranza immunitaria: il paziente viene infatti trattato nel tempo con piccole quantità di allergene (cui il suo sistema immunitario risulta sensibilizzato), con lo scopo di ridurre / modulare proprio la produzione di IgE, modificando in questo modo uno dei meccanismi della risposta allergica.

## Ruolo dell'infiammazione

Quando l'allergene penetra nel sistema respiratorio del cavallo affetto da asma, i macrofagi per primi lo intercettano e richiamano neutrofili, linfociti ed eosinofili che successivamente, quando attivati dal contatto con il medesimo allergene, innescano la liberazione di sostanze chemotattiche che attivano altre cellule della serie bianca, scatenando un processo infiammatorio nel lume e nella sottomucosa bronchiale. Questo provoca - come precedentemente affermato - una cascata di eventi quali broncocostrizione, produzione di muco, infiammazione cronica e da ultimo un rimodellamento delle vie aeree stesse con perdita del tono per degradazione del collagene ed elastina. I macrofagi inglobano ed eliminano i neutrofili dal lume, contribuendo alla risoluzione dell'infiammazione e del broncospasmo. Purtroppo nei casi più severi questo meccanismo di rimozione risulta essere insufficiente a garantire l'attenuazione della sintomatologia clinica, che pertanto si mantiene con un meccanismo di auto-propagazione.

Vedremo più avanti come un'attenta lettura dei rilievi citologici da lavaggio broncoalveolare (BAL) e tracheal wash (TW) ci permette di diagnosticare con precisione la presenza di

infiammazione, infezione, emorragia o rimodellamento delle vie respiratorie del soggetto preso in esame, in modo da poter attuare le migliori strategie terapeutiche.

## Ruolo di batteri e virus respiratori

Non è ancora completamente chiarito quale sia il ruolo dei batteri / virus respiratori nell'eziopatogenesi dell'asma equina. Certamente possono contribuire ad innescare e mantenere il processo infiammatorio che appare essere una delle componenti di questa patologia, come pure le temperature basse dei mesi invernali che riducono le difese delle vie aeree e favoriscono l'accumulo del muco aggravando il quadro respiratorio generale.

Tra gli agenti eziologici maggiormente responsabili di infiammazione tracheo-bronchiale nel cavallo ricordiamo lo *Streptococcus zooepidemicus* e gli *Herpesvirus*.

Possiamo ricercare questi ed altri microrganismi tramite coltura o PCR direttamente dai fluidi di lavaggio, da BAL o da TW.

## DIAGNOSTICA DI LABORATORIO BAL – Lavaggio broncoalveolare

Questa metodica è utilizzata per prendere in esame la parte distale delle vie aeree (bronchi ed alveoli), può essere effettuata con l'ausilio di un endoscopio od alla cieca tramite apposito catetere cuffiato. È consigliata la sedazione in entrambi i casi per limitare la stimolazione del riflesso della tosse, evento frequente in questi soggetti con iperreattività marcata.

I campioni così ottenuti sono poco attendibili per la batteriologia, in quanto il passaggio per la via oronasale del catetere e / o endoscopio espone a contaminazione da parte della flora batterica di queste prime vie (per questo esame è pertanto più adatto il tracheal wash). Normalmente il liquido recuperato appare trasparente, con piccole quantità di muco

chiaro o di surfattante, con bassa cellularità. Per questo motivo è preferibile inviare al laboratorio:

- uno o più vetrini allestiti dopo citospin (500 giri / sec per 5 minuti), eliminando il surnatante, risospesando e strisciando il pellet ottenuto su un vetrino con l'ausilio di un citobrush. Si lascia asciugare e si invia quindi il materiale al laboratorio per la colorazione.
- del liquido in alcune provette con EDTA, per permettere l'allestimento di citospin e vetrini presso il laboratorio entro le 24 h successive.

La presenza di EDTA impedisce infatti la formazione di cluster di cellule che renderebbero la morfologia cellulare poco indicativa per il patologo che dovrà successivamente esaminare il materiale. La quantità totale assoluta delle cellule rilevate non è un parametro significativo in quanto dipende dalla quantità di liquido recuperato.

#### Normalità:

si rilevano occasionali cellule epiteliali, macrofagi alveolari per il 50% - 70%, piccoli linfociti per circa il 30% - 50%, rari neutrofili < del 5%, rari mast-zellen ed eosinofili.

#### Asma equina lieve / moderata (ex IAD):

si verifica un aumento dei neutrofili ma non oltre il 20%, mast-zellen ed eosinofili lievemente aumentati. Questa forma lieve può colpire soggetti di tutte le età, con sintomi lievi spesso solo dopo esercizio e non a riposo.

#### Asma equina grave (ex RAO, SPAOPD):

si rilevano oltre il 25% di neutrofili, un aumento deciso del muco e la presenza di spirali di Curschmann (filamenti di muco riproducenti la forma a spirale dei bronchioli).

Questa forma grave colpisce di solito gli adulti, con sintomi evidenti anche a riposo che peggiorano drasticamente dopo l'esercizio.

## **TW – Tracheal wash**

Il lavaggio tracheale si effettua generalmente per via percutanea, nel terzo prossimale della trachea. Questa tecnica permette di bypassare le prime vie aeree ed evitare contaminazioni batteriche provenienti dal distretto naso-orofaringeo e per valutare correttamente la presenza di batteri / virus in trachea e bronchi. E' possibile anche l'utilizzo della tecnica endoscopica, ma questa deve essere effettuata con molta attenzione e tramite sedazione, utilizzo di spray anestetici laringei per ridurre il riflesso della tosse e doppio catetere camiciato.

Un buon campione dovrebbe essere leggermente opaco, con presenza di muco e frustoli. Campioni con fluido trasparente potrebbero non essere indicativi.

Per l'esame batteriologico il fluido deve essere posto:

- in provette sterili senza additivo
- in bottiglie da emocoltura (alcuni ml)
- può essere effettuato un tampone con medium direttamente al momento del prelievo.

In tutti i casi si consiglia di inviare il materiale refrigerato al laboratorio entro le 24 ore per evitare la crescita di batteri commensali opportunisti (tranne che per la bottiglia per emocoltura, che richiede invece la temperatura ambiente).

Per la ricerca virale è possibile inviare sia del liquido in provetta sterile che un tampone a secco preso al momento del prelievo stesso.

Qualora si volesse effettuare un esame citologico da questo materiale, è preferibile effettuare un citospin, con le stesse accortezze utilizzate per l'allestimento del vetrino da BAL.

La citologia del lavaggio tracheale non è molto indicativa né specifica in quanto la morfologia cellulare è spesso alterata, questo succede sia

a causa della metodica stessa che per l'estrema variabilità di popolazioni cellulari rilevabili.

#### Normalità:

non ci sono limiti di riferimento comunemente accettati per la valutazione citologica del fluido da TW. Possiamo però notare che si rilevano molte cellule epiteliali ciliate e macrofagi, pochi linfociti e neutrofili (meno del 20%), rari eosinofili e plasmacellule. Occasionalmente possiamo rilevare muco, cellule mucipare caliciformi (goblet cells), frammenti di fibre vegetali ed emazie.

## **Errori di campionamento**

Entrambe le metodiche: se il fluido recuperato appare limpido e vi è assenza di muco e / o surfattante, molto probabilmente il campione non è indicativo ed all'esame citologico delle poche cellule dopo citospin non si riscontreranno cellule utili per la diagnostica.

BAL: se si rilevano solamente cellule epiteliali colonnari, senza macrofagi molto probabilmente sono state campionate le vie aeree superiori.

TW: se si rilevano cellule epiteliali squamose, batteri e fibre vegetali molto probabilmente si è verificata una contaminazione orofaringea.

Per ulteriori approfondimenti tecnici concernenti l'esecuzione di questi esami, vedi o richiedi il pdf di: **“Practical Tips nella diagnostica equina: Broncho alveolar lavage (BAL) e Tracheal wash (TW)”** (giugno 2019).