

L'esame citologico del lavaggio bronco-alveolare nel cavallo

Un valido strumento diagnostico al fianco del veterinario per la diagnosi delle patologie respiratorie

a cura di: Francesco Cian DVM DipECVCP FRCPath MRCVS, Specialista Europeo in Patologia Clinica Veterinaria

Un recente sondaggio nel Regno Unito (*"National Equine Health Survey"*) ha collocato le patologie respiratorie al quarto posto delle più comuni preoccupazioni per la salute da parte dei proprietari di cavalli. Dal momento che un efficiente scambio di gas (in particolare di ossigeno) è una priorità fondamentale per un cavallo da competizione, queste problematiche risultano ancora più importanti nel settore agonistico, dove talvolta gli animali affetti da queste patologie non presentano chiari segni clinici ma unicamente una riduzione delle performance atletiche.

La diagnosi delle patologie respiratorie del cavallo può essere inoltre resa difficile dalla natura spesso non specifica dei segni clinici quali tosse, scolo nasale e rumori respiratori. L'esame citologico delle secrezioni respiratorie (lavaggio tracheale e/o bronco-alveolare) è uno degli innumerevoli strumenti diagnostici che, combinati ad un accurato esame clinico, hanno la capacità di fornire importanti informazioni utili al raggiungimento di una diagnosi definitiva delle patologie respiratorie e di un trattamento adeguato.

Il lavaggio tracheale può essere effettuato per via endoscopica o per via trans-tracheale, attraverso l'introduzione di un catetere tra gli anelli tracheali. La prima tecnica presenta un consistente rischio di contaminazione orofaringea che spesso avviene al momento dell'introduzione della sonda endoscopica / catetere nel cavo orale. La seconda è una tecnica decisamente più invasiva ma considerata ideale per ottenere campioni adatti per indagini microbiologiche.

Il lavaggio bronco-alveolare avviene attraverso l'introduzione nelle vie respiratorie profonde di una sonda endoscopica o semplicemente di un catetere

(tecnica alla cieca). A questo segue l'infusione di una quantità variabile di soluzione salina (o PBS - Phosphate-buffered saline) che viene poi rapidamente raccolta e trasferita in appositi contenitori per l'invio al laboratorio. Si consiglia di suddividere il campione in due aliquote, una da mettere in una provetta contenente EDTA per l'esame citologico ed una vuota per indagini culturali (la maggior parte degli anticoagulanti hanno un effetto batterio-statico / battericida e non sono pertanto consigliati).

Qualora l'esame citologico richieda più di 24 ore per essere effettuato (p.es. invio del campione al laboratorio di analisi), si può considerare l'aggiunta al campione di sostanze preservanti (p.es. formalina), finalizzate a preservare le caratteristiche cellulari e a rallentare i processi degenerativi a carico delle cellule.

L'esame citologico del lavaggio bronco-alveolare presenta innumerevoli vantaggi rispetto al lavaggio tracheale in quanto fornisce un quadro più completo delle condizioni delle vie respiratorie profonde, non a caso è considerato il gold-standard per la diagnosi di molte patologie respiratorie.

Prima di illustrare brevemente le principali patologie respiratorie del cavallo e i relativi quadri citologici è importante conoscere la citologia "normale" dei lavaggi bronco-alveolari.

In **condizioni di normalità il lavaggio bronco alveolare** si presenta come un liquido trasparente, lievemente torbido, con una minima quantità di schiuma in superficie (dovuta alla presenza di surfattante polmonare secreto dalle cellule alveolari di classe II). Dall'esame del lavaggio bronco-alveolare in un cavallo sano ci aspettiamo un campione citologico con bassa cellularità (Tabella 1). Per questo motivo, all'esame di una preparazione diretta, si suggerisce sempre una centrifugazione o ancor meglio una citocentrifugazione se si dispone di una centrifuga apposita per ottenere preparati citologici da fluidi ipocellulari (cito centrifuga).

La popolazione prevalente è caratterizzata da macrofagi alveolari che rappresentano oltre 50% delle cellule nucleate totali. I macrofagi alveolari si presentano come cellule mononucleari di dimensioni medio-elevate, con abbondante citoplasma

frequentemente vacuolizzato. Il nucleo è rotondo, da paracentrale a eccentrico, con cromatina granulata. Sono presenti inoltre percentuali inferiori di piccoli linfociti (30-50%), rari neutrofili (<5%), mastociti ed eosinofili. Si possono osservare raramente anche occasionali cellule epiteliali, originarie dalla mucosa delle vie respiratorie più superficiali.

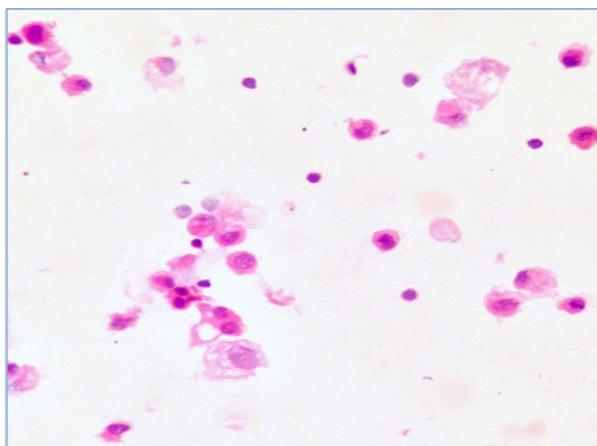


Fig. 1: Cavallo, BAL, quadro citologico normale con prevalenza di macrofagi e occasionali piccoli linfociti, H&E, 40x

Tipologia cellulare	BAL - Lavaggio Broncoalveolare
Cell. epit. respiratorie	Rare
Macrofagi	50-70%
Linfociti	30-50%
Neutrofili	<5%
Mastociti	<2%
Eosinofili	<0.01%

Tabella 1. Principali tipologie cellulari osservate in preparati citologici di lavaggio bronco-alveolare nella specie equina (Hoffman, 2008)

Passiamo ora brevemente in rassegna le principali patologie respiratorie del cavallo.

Inflammatory airway disease (IAD) e Recurrent Airway Obstruction (RAO).

RAO e IAD sono tra le più comuni patologie respiratorie del cavallo. Sono entrambe delle

patologie su base infiammatoria, non infettiva. L'eziologia non è stata completamente chiarita, ma si sospetta alla base una componente di ipersensibilità. Le polveri disperse nell'aria delle aree di ricovero per i cavalli giocano un ruolo determinante, come prova il fatto che l'incidenza di queste patologie è molto più elevata nei paesi dal clima umido e piovoso dove i cavalli vengono tenuti in ricoveri al chiuso. Entrambe le patologie si presentano con un aumento della componente neutrofilica del BAL, più marcata nella RAO (neutrofili > 25%). In caso di IAD si può inoltre osservare un aumento di mastociti ed eosinofili. I segni clinici variano e sono prevalentemente respiratori (tosse, scolo nasale, riduzione dell'attività) e in caso di RAO sono evidenti anche a riposo.

Processi infiammatori su base infettiva

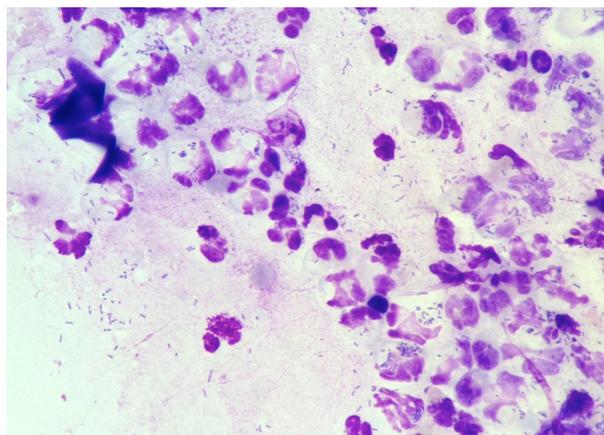


Fig. 2: Cavallo, BAL, infiammazione neutrofilica settica. Prevalenza di neutrofili ed elementi batterici intra- ed extra-cellulari, Wright Giemsa, 50x.

Infiammazioni di natura settica sono frequentemente associate a segni clinici marcati di tipo sistemico (es. abbattimento, febbre) e più strettamente respiratorio (tosse, scolo nasale purulento, rumori respiratori). Da un punto di vista citologico, i lavaggi bronco-alveolari sono caratterizzati da un marcato aumento della cellularità con una prevalenza netta di neutrofili, spesso con marcati segni di degenerazione. È comune inoltre osservare la presenza di elementi batterici intracellulari che permettono di confermare l'evento

settico. In questi casi è strettamente consigliato un esame colturale del lavaggio per confermare l'infezione ed instaurare la terapia antibiotica più appropriata.

EIPH (exercise induced pulmonary haemorrhage)

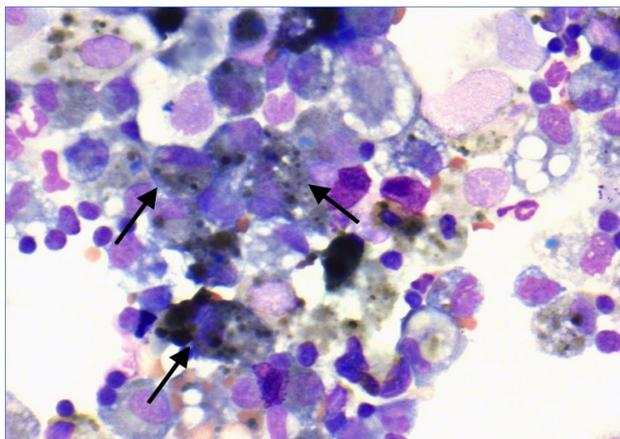


Fig. 3: Cavallo, EIPH. Prevalenza di macrofagi contenenti emosiderina (frecce), Wright Giemsa 50x

Questa patologia su base emorragica è molto comune tra i cavalli da competizione ed è conseguente ad un esercizio intenso che può causare uno stress eccessivo a carico dei capillari associati alle strutture alveolari con conseguente emorragia. Citologicamente, questa patologia si caratterizza per la presenza di eritrociti o macrofagi con segni di eritrofagocitosi (emorragia acuta); nei casi di emorragia cronica è invece comune osservare macrofagi contenenti del materiale brunastro intracitoplasmatico, prodotto della degradazione dell'eritrocita e chiamato emosiderina (indicate dalle frecce nella figura 3).

La citologia delle secrezioni respiratorie è un valido strumento diagnostico per l'identificazione delle patologie respiratorie nel cavallo e può fornire importanti informazioni con valenza prognostica e finalizzate alla selezione del più appropriato approccio terapeutico.

Bibliografia

- Cian F, Monti P, Durham A. (2015) Cytology of the lower respiratory tract in horses: An updated review. *Equine Veterinary Education*. 27, 423-432.
- Slater, J. (2014) National Equine Health Survey (NEHS) 2014. Available at: <http://www.bluecross.org.uk/files/nehs-report-may-2014.pdf> Accessed January 11, 2014.
- Hoffman, A.M. (2008) Bronchoalveolar lavage: sampling technique and guidelines for cytologic preparation and interpretation. *Veterinary Clinical North America Equine Practice*. 24, 423-432.

*** **