

PRELIEVO PER ESAME CITOLOGICO TRAMITE AGO A SPIRALE: ESPERIENZE PERSONALI SULL'INDAGINE DI NEOFORMAZIONI CUTANEE E MUCOSALI

CARLO MASSERDOTTI

DVM, Dipl. ECVCP, Brescia

Riassunto

Viene proposta una nuova tecnica di prelievo per indagine citologica, basata sullo strappamento degli elementi cellulari dalla sede tissutale per mezzo della capacità di taglio di un ago a spirale anziché tramite sfruttamento della forza pressoria indotta dall'agoaspirazione. La metodica è stata sperimentata nell'indagine di lesioni, soprattutto cutanee, sottocutanee e mucosali che, a causa della loro natura anatomica di tenace coesione intercellulare, cedono materiale scarso o nullo con i prelievi standard. L'articolo descrive lo studio citologico di neoformazioni di nove cani e di due gatti, con particolare riferimento al miglioramento della cellularità in alcuni dei campioni prelevati secondo la metodica in questione, rispetto a quelle tradizionali.

Summary

A new technic in collection for cytologic examination, based on the action of the sharp border of a spiral needle is proposed. This method was tested in investigation of cutaneous, subcutaneous or mucosal neoplasms, that provide otherwise poor cellular samples because the strong intercellular cohesion. The paper describe the cytologic features of nine canine and two feline tumors, and emphasize the improvement of cellularity of some samples by the use of the new technic, when compared with the traditional methods.

INTRODUZIONE

I metodi di prelievo tradizionali permettono nella maggioranza dei casi di ottenere materiale sufficiente per indagini citologiche. Occasionalmente alcune lesioni, per la natura istologica che le caratterizza, non cedono cellule per l'esame e sono diagnosticabili solo tramite metodiche invasive di prelievo, che frequentemente richiedono la sedazione del soggetto e il ricorso successivo all'indagine istopatologica. Lo scopo del presente lavoro è di analizzare i risultati ottenuti dal prelievo eseguito tramite una metodica non convenzionale, che prevede l'utilizzo di un ago a spirale: tale metodica sfrutta la capacità di taglio della spirale d'acciaio che, infissa per avvitamento nei tessuti neoplastici, trattiene tra le spire materiale cellulare.

MATERIALI E METODI

Nove cani e due gatti presentati alla visita clinica per la presenza di neoformazioni cutanee e mucosali sono stati

sottoposti al prelievo tramite agofissione^{1,2} (FNCS o fine-needle capillary suction), utilizzando aghi 25 Gauge. Le caratteristiche cliniche delle lesioni riscontrate in sede di visita sono elencate per ciascun soggetto nella Tabella 1. In tutti i casi l'esame citologico, eseguito previa colorazione rapida con metodo Diff-Quik®, ha fornito risultati non diagnostici, caratterizzati da campioni ematici non cellulari o popolati da rari leucociti. Risultati citologici analoghi sono stati ottenuti con un ulteriore tentativo di prelievo, eseguito tramite agoaspirazione (FNA o fine-needle aspiration), utilizzando aghi 25 Gauge ricordati a siringa da 5 ml montata su Cameco Syringe Pistol®.

Per ogni soggetto si è proceduto quindi al prelievo tramite infissione nella lesione neoformata di un ago, precedentemente sterilizzato in autoclave, dotato di impugnatura zigrinata e di fusto non cavo con spire in acciaio, di tipo odontoiatrico (Raspe Manuali in Nichel-Titanio, conicità 2%, lunghezza 60 mm, spessore 1 mm, SENDOLINE AB®, Fig. 1); l'ago, previa tricotomia e disinfezione, è stato infisso nella lesione per avvitamento sino a circa metà della sua lunghezza, dopodiché è stato estratto con una manovra rapida e secca. L'operazione è stata preceduta, nel caso n°5 e nel caso n°9, dalla somministrazione locale di un modesto quantitativo (ca. 1 cc) di lidocaina 2%; nel caso n°7 la manovra è stata preceduta dalla somministrazione di 1 cc di li-

¹“Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 8/3/2006 ed accettato per pubblicazione dopo revisione il 10/4/2006”.



FIGURA 1 - Ago a spirale di tipo odontoiatrico.

docaina 2% e dall'esecuzione di una piccola incisione con lama di bisturi per avviare all'attraversamento da parte dell'ago della cute sovrabbondante sovrastante la lesione.

L'esame ravvicinato dello strumento immediatamente dopo l'estrazione ha permesso di individuare quantità variabili di materiale cellulare rimasto adeso al decorso delle spire, che è stato deposto su vetrino portaoggetto per apposizione diretta o con l'aiuto di un secondo ago, allestito per striscio o schiacciamento e colorato secondo la metodica di May-Grünwald Giemsa. Per ogni neoformazione sono stati confrontati i risultati provenienti dall'agofissione/agoaspirazione e dal prelievo tramite ago a spirale. Successivamente ogni paziente è stato sottoposto all'escissione chirurgica della neoplasia per la quale è stato visitato, con l'eccezione del soggetto n°1 che, a causa dello scadimento progressivo delle condizioni, è stato sottoposto ad eutanasia e ad esame autoptico. Ciascuno dei frammenti tissutali neoplastici asportati è stato fissato in formalina 10% tamponata o in soluzione di Holland e successivamente è stato sottoposto ad indagine istopatologica. Per ogni campione è stata infine confrontata la diagnosi proveniente dal prelievo tramite ago a spirale con quella relativa all'esame istopatologico.

RISULTATI

L'agofissione, come anticipato precedentemente, ha fornito risultati costantemente deludenti dal punto di vista della cellularità diagnostica per tutti gli 11 casi, con quadri microscopici che andavano dal reperto acellulare o popolato da rari leucociti (Fig. 2), a campioni esclusivamente ematici, a reperti rappresentati da scarso detrito necrotico. La ripetizione dei prelievi utilizzando aghi di calibro maggiore con metodiche di agoaspirazione non ha migliorato i risultati del campionamento, che si limitava a fornire reperti simili, materiale detritico o necrotico.

Il prelievo mediante ago a spirale ha fornito invece campioni cellulari in 6 soggetti su 11 (54,5%; casi n°1, n°3, n°4, n°5, n°7, n°9). I campioni, dopo colorazione, apparivano macroscopicamente costituiti dall'adesione su vetrino di materiale in frustoli irregolari o da strisci omogenei. Dei 6 campioni dichiarati cellulari e diagnostici 5 (83,3%) hanno permesso una diagnosi citologica poi confermata dall'indagine istopatologica (casi n°1, n°4, n°5, n°7, n°9). Il campione relativo al caso n°1 ha permesso l'emissione di

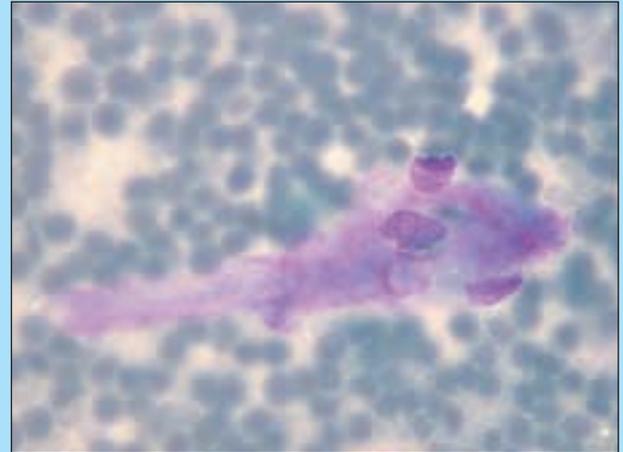


FIGURA 2 - Su fondo ematico l'agofissione e l'agoaspirazione di un leiomioma cedono scarso materiale eosinofilo fibrillare su fondo ematico e rari leucociti (MGG, 100X).



FIGURA 3 - L'utilizzo dell'ago a spirale fornisce abbondante materiale cellulare, rappresentato da elementi fusati dotati di nucleo ovoidale "cigar-shaped" (MGG, 40X).

una diagnosi di sarcoma, per la presenza di elementi rotondeggianti o fusati a citoplasma variabilmente basofilo, granulato o microvacuolizzato, recante nucleo eccentrico dismetrico a cromatina coartata multinucleolata; l'esame autoptico ha evidenziato esteso coinvolgimento della base ossea femorale, ed una diagnosi istologica definitiva di osteosarcoma associato a diffusi fenomeni edemigeni, flogistici suppurativi e fibroplastici. Il campione relativo al caso n°4 ha esibito elementi fusati a citoplasma indistinto debolmente basofilo, recante nucleo a profilo irregolarmente ovoidale a cromatina coartata mononucleolata, sulla base dei quali è stata emessa diagnosi di sarcoma, poi confermato istologicamente come fibrosarcoma ben differenziato. I campioni relativi ai casi n°5 e n°9 hanno evidenziato la presenza di ammassi tridimensionali di cellule, alla periferia dei quali si individuava la presenza di elementi singoli o in aggregati coesivi, a citoplasma fusato debolmente basofilo e nucleo ovoidale allungato con forma caratteristica denominata "cigar-shaped", che consentiva di esprimersi circa una diagnosi di leiomioma (Fig. 3). Il campione relativo al caso n°7 era caratterizzato da materiale necrotico, su cui spiccava la presenza di elementi fu-

Tabella 1

Paziente	Razza	Sesso	Età	Tumore	Diagnosi citologica con FNA	Diagnosi citologica con ago a spirale	Diagnosi istologica
1) Cane	Incrocio	M	8	Neof. coscia	Flogosi e detritico	Sarcoma	Osteosarcoma
2) Cane	Pastore Tedesco	M	9	Neof. gengiva	Ematico acellulare	Ematico acellulare; non conclusivo	Iperplasia gengivale
3) Cane	Golden Retriever	M	12	Neof. dorso	Acellulare	Rari elementi fusati normali; non conclusivo	Amartoma collagene
4) Cane	Alano	F	10	Neof. braccio	Acellulare	Sarcoma	Fibrosarcoma ben differenziato
5) Cane	Alano	F	11	Neof. vagina	Ematico acellulare	Leiomioma	Leiomioma
6) Cane	Incrocio	F	12	Neof. fianco	Acellulare con gocce lipidiche	Sporadici aggregati di adipociti maturi; non conclusivo	Lipoma
7) Gatto	Europeo	F	11	Neof. dorso	Ematico e detritico	Sarcoma	Injection site sarcoma
8) Gatto	Europeo	M	8	Neof. tarso	Ematico acellulare	Flogosi aspecifica	Dermatite nodulare piogranulomatosa
9) Cane	Incrocio	F	12	Neof. vagina	Acellulare	Leiomioma	Leiomioma
10) Cane	Kurzhaar	M	7	Neof. torace	Acellulare con gocce lipidiche	Sporadici aggregati di adipociti maturi; non conclusivo	Lipoma
11) Cane	Boxer	F	6	Neof. dorso	Ematico acellulare	Ematico acellulare; non conclusivo	Emangioma

sati od ovoidali in gruppi discoesivi, a citoplasma basofilo e nucleo dismetrico a cromatina zollata macronucleolato, che individuava una diagnosi di sarcoma, poi perfezionata come sarcoma iniezione-indotto all'esame istologico. Un campione (caso n°3) ha fornito, su scarso materiale ematico di fondo, rari elementi cellulari fusati normoconformati, non conclusivi per la diagnosi.

I campioni relativi ai casi n° 2 e n°11 hanno fornito materiale esclusivamente ematico anche con il prelievo tramite ago a spirale; il campione relativo al caso n°8 era costituito da materiale ematico e cellule flogistiche, di tipo granulocitario neutrofilico ed istiocitario/macrofagico, mentre i campioni relativi ai casi n°6 e n°10 erano rappresentati solamente da aggregati di adipociti maturi.

Il segnalamento dei pazienti, i caratteri clinici delle lesioni cutanee riscontrate in sede di visita, i risultati dell'esame citologico effettuato con agoaspirazione e con prelievo tramite ago a spirale sono elencati per ciascun soggetto nella Tabella 1.

DISCUSSIONE

L'esame citologico si avvale tradizionalmente di metodi di prelievo ampiamente utilizzati nella diagnostica routinaria e che vengono descritti nelle principali pubblicazioni scientifiche sull'argomento^{3,4,5}. Occasionalmente la casistica clinica sottopone lesioni che cedono materiale insufficiente per un'indagine citologica, come conseguenza delle loro caratteristiche microanatomiche, quali per esempio la composizione rappresentata esclusivamente da elementi fusocellulari ben differenziati tenacemente coesivi, o per strutturazione prevalentemente vascolare o, infine, per essere effettivamente costituiti da stroma connettivale povero di elementi cellulari recuperabili con le metodiche citate. Questi tipi di lesione devono necessariamente essere

sottoposti ad indagine istopatologica, previo campionamento tramite biopsia od escissione chirurgica, con aumento del disagio e dei rischi per l'animale, dei costi per il proprietario e dei tempi di attesa per decisioni terapeutiche o considerazioni prognostiche.

La metodica descritta si propone di fornire al clinico un mezzo supplementare per tentare di risolvere i problemi diagnostici su un campo puramente citologico e di semplificare quindi le modalità di gestione del paziente.

Le tecniche standard di prelievo per esame citologico hanno fornito reperti non diagnostici in tutti gli 11 casi descritti in tabella. In 6 degli 11 casi (54,5%) è stato possibile ottenere materiale cellulare tramite la tecnica dell'ago a spirale, che ha fornito diagnosi citologiche poi confermate in sede istopatologica in cinque dei sei casi (83,3%). 2 (caso n°1 e caso n°4) dei 6 casi, in cui l'ago a spirale ha fornito risultati diagnostici rispetto all'impiego della tecnica di FNCS e di FNA, sono rappresentati da forme neoplastiche mesenchimali maligne caratterizzate dal punto di vista istologico da quadri dove la proliferazione neoplastica si associava, nel primo caso, a fenomeni diffusi di flogosi e fibroplasia e, nel secondo, alla concomitanza di abbondante matrice extracellulare, che rappresentava presumibilmente la causa di scarsa cessione di materiale cellulare con le tecniche standard. In un caso (gatto n°7) la tecnica FNA ha fornito materiale detritico necrotico, a fronte di una cellularità ottenuta tramite ago a spirale rappresentata da elementi fusocellulari maligni, suggestivi di forma sarcomatosa: in questo singolo caso il quadro istologico individuava una lesione estesamente occupata da aree necrotiche alla cui periferia e focalmente in posizione centrolesionale si distribuivano fasci di elementi neoplastici maligni, che confermavano la diagnosi di sarcoma: la resa costantemente non diagnostica con la FNCS e la FNA è da imputare probabilmente al campionamento in sede di degenerazione necrotica, mentre il campionamento con ago a spirale

ha coperto una superficie lesionale più ampia, estesa dai segmenti sottoepidermici sino al centro della lesione.

In 3 casi (caso n°3, n°5 e n°9) la tecnica per FNA non ha fornito quadri citologici diagnostici per effetto delle peculiarità intrinseche delle neoplasie in questione, che erano rappresentate da un amartoma collagene e da due leiomiomi vaginali, e caratterizzate da tenace adesione intercellulare. La tecnica di prelievo con ago a spirale ha fornito invece nei due casi di leiomioma quantitativi di materiale sufficiente per l'emissione di considerazioni diagnostiche, ma solo alcune cellule fuse nel caso dell'amartoma collagene.

In cinque casi (cane n°2, cane n°6, gatto n°8, cane n°10, cane n°11) nemmeno l'esecuzione del prelievo con ago a spirale ha permesso di ottenere materiale diagnostico per l'indagine citologica; tutti questi casi sono stati identificati tramite esame istologico come lesioni neoplastiche benigne (due lipomi ed un emangioma), o come forme proliferative non neoplastiche (un'iperplasia gengivale ed una dermatite nodulare piogranulomatosa): verosimilmente i caratteri microanatomici dell'emangioma, costituito da lacune percolate da emazie e delimitate da endotelio, sono alla base di allettamenti esclusivamente ematici, così come i campionamenti del lipoma, costituiti da aggregati di adipociti, non permettono di distinguerlo dal tessuto adiposo normale. L'iperplasia gengivale e la dermatite nodulare piogranulomatosa possono mimare macroscopicamente l'aspetto di neoplasie, ma microscopicamente esse sono costituite da abbondante stroma collagene maturo nel primo caso e da flogosi associata a fenomeni di fibroplasia nel secondo.

L'esecuzione della tecnica di prelievo tramite ago a spirale ha evidenziato alcuni svantaggi riassumibili nella necessità di ricorrere alla somministrazione di un piccolo quantitativo di anestetico locale in due degli undici casi descritti (caso n°5 e caso n°9): in entrambi i casi il prelievo è stato condotto a carico della mucosa vaginale, che rappresenta un punto particolarmente sensibile a procedure dolorose. In entrambi i casi la manovra ha tuttavia permesso, unitamente all'anamnesi e ai segni clinici, il raggiungimento di una diagnosi citologica corretta di leiomioma ed evitato procedure biotiche maggiormente invasive o dolorose per il soggetto. In un singolo caso (caso n°7) si è proceduto, previa somministrazione di 1 cc di lidocaina 2%, ad una piccola incisione cutanea superficiale, utilizzando una lama da bisturi, per permettere all'ago a spirale di raggiungere gli strati profondi della lesione neoplastica ed evitando l'attraversamento di una coper-

tura cutanea sovrabbondante. In un unico caso (caso n°1) l'esecuzione del prelievo tramite ago a spirale ha determinato, nei giorni successivi all'operazione, l'insorgenza di complicazioni di natura suppurativa in sede di campionamento; il caso in questione era relativo ad un soggetto con un voluminoso ispessimento interessante i tessuti molli della coscia ed una neoplasia primaria localizzata alla base ossea femorale: non è stato chiarito con sufficiente precisione se la complicazione suppurativa sia insorta a seguito dell'utilizzo di uno strumento non perfettamente sterilizzato, se la manovra abbia trasportato germi patogeni nella profondità del letto lesionale o se fosse già in atto un processo infettivo a carico dell'arto gravemente compromesso: è tuttavia utile ai fini pratici considerare la possibilità che il prelievo possa determinare complicazioni di ordine infettivo e di adottare di conseguenza tutte le misure precauzionali per diminuire al minimo tale rischio.

CONCLUSIONI

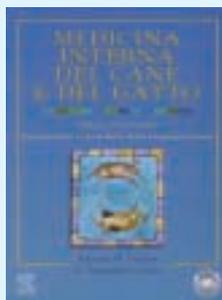
In una selezione di casi clinici per i quali non è stato possibile ottenere materiale cellulare con le tecniche di prelievo tradizionali, la metodica proposta ha permesso di ottenere campioni cellulari in una percentuale di essi superiore alla metà (54,5%). In un'alta percentuale di questi casi (83,3%) l'indagine citologica ha fornito diagnosi definitive corrette e confermate in sede istopatologica. Il metodo richiede ulteriore perfezionamento, da ricercare soprattutto in una casistica più ampia, nell'approfondimento delle manovre di esecuzione e nella selezione clinica di lesioni e siti anatomici da considerare idonei per l'ottenimento di campioni diagnostici.

Lettere consigliate

1. Mair S, Dunbar F, Becker PJ: Fine needle cytology - is aspiration suction necessary? A study of 100 masses in various sites. *Acta Cytol* 33:809-813, 1989.
2. Yue X, Zheng S: Cytologic diagnosis by transthoracic fine needle sampling without aspiration. *Acta Cytol* 33:806-808, 1989.
3. Baker R, Lumsden JH; Color Atlas of Cytology of the Dog and Cat. St. Louis Mosby, 2000.
4. Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH: Cytology of the Dog and Cat. St. Louis, Mosby, 1999.
5. Raskin RE, Meyer DJ: Atlas of Canine and Feline Cytology. Philadelphia, WB Saunders Company, 2001.

EDIZIONI VETERINARIE

Per ordini e informazioni: Tel. 0372/403507 - Fax 0372/457091 E-mail editoria@evsrl.it - www.evsrl.it



MEDIN129
NELSON - COUTO
"Medicina Interna del Cane e del Gatto. CD-ROM incluso"
3/ed. italiana 2006.
Elsevier Italia
listino € 199,00
scontato € 169,00



MEDIN134
M. SCHAEFER
"Medicina Clinica del Cane e del Gatto"
1ª ed. 2006 EV-MASSON
listino € 130,00
scontato € 111,00