

CORNER DIAGNOSTICO

Citologia



PRESENTAZIONE CLINICA

Un cane boxer, femmina sterilizzata, di 2 anni viene portata in visita per tosse cronica persistente da circa 6 mesi e recidivante dopo sospensione della terapia antibiotica. Il cane vive in casa, è regolarmente vaccinato e trattato per ecto-endoparassiti. Alla visita clinica, il paziente si presenta in discreto stato di nutrizione, con scolo nasale muco-purulento bilaterale e murmure respiratorio rinforzato. Gli esami emato-biochimici rilevano: lieve leucocitosi neutrofilica (leucociti totali 22.860/uL - IR 6.050-16.760/uL; granulociti neutrofili 76%, pari a 17.374/uL - IR 2.950-11.640/uL) con left shift rigenerativo (granulociti neutrofili bandati 5%, pari a 1.143/uL - IR 0-300/uL) e moderati segni di tossicità, ipoalbuminemia con contestuale aumento delle frazioni delle alfa2 e beta1 globuline, valutate mediante elettroforesi sierica. Le radiografie toraciche evidenziano un pattern bronco-interstiziale. Si procede quindi all'esecuzione di un lavaggio broncoalveolare (BAL); il campione ottenuto viene valutato previa centrifugazione e i preparati citologici colorati con colorazione di May-Grünwald-Giemsa (MGG). Di seguito, una foto rappresentativa del campione in esame (Figura 1).

Giulia Mangiagalli

Med Vet. Clinica Veterinaria Gran Sasso (Milano)

Martine Didier, Med Vet, PhD. Clinica Veterinaria Gran Sasso (Milano), Gruppo Endovet Italia

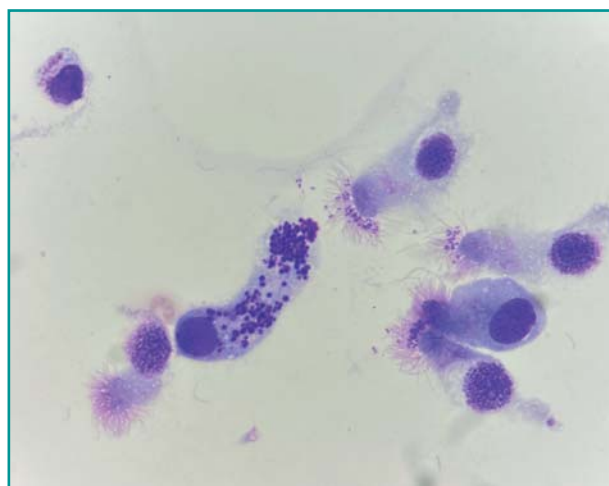


Figure 1 - BAL. Campione ottenuto per strisciamento del sedimento (MGG, 100x).

Domande

- 1) Sulla base dei dati clinici e dei reperti citologici, quale potrebbe essere il principale sospetto diagnostico?
- 2) Quali test aggiuntivi possono essere eseguiti per confermarlo?

RISPOSTE E DISCUSSIONE

Il campione citologico in esame si presenta di buona cellularità con sfondo granulare rosato, occasionali stralci di muco e numerosi batteri misti sparsi, per lo più di forma coccobacillare. Si osserva una popolazione prevalente rappresentata da numerose cellule dell'epitelio respiratorio colonnare ciliato, sia singole che riunite in gruppi: adesi al margine delle *cilia* si osservano frequentemente batteri di forma coccobacillare (Figura 2). Sono inoltre presenti numerose goblet cells (cellula visibile al centro-sinistra della Figura 1, con citoplasma occupato da numerosi granuli di muco basofili), occasionali granulociti neutrofili degenerati, talvolta in fagocitosi di batteri di aspetto coccobacillare (Figura 3), e rari macrofagi schiumosi. Il quadro citologico è compatibile con flogosi neutrofilica settica, in prima ipotesi da infezione da *Bordetella bronchiseptica*. Inizialmente, viene eseguito un esame batteriologico che da esito di *Acinetobacter junii*. Inoltre, in base al sospetto citologico, viene eseguita la PCR per la ricerca di *Bordetella bronchiseptica* su un'aliquota di campione conservato refrigerato sette giorni, in attesa dell'esito dell'esame batteriologico; la PCR conferma, infine, la diagnosi di *Bordetella bronchiseptica*.

Bordetella bronchiseptica è un batterio aerobio Gram negativo di aspetto coccobacillare, considerato uno dei principali patogeni coinvolti nella sindrome della malattia respiratoria infettiva del cane, conosciuta anche come la tosse dei canili. È una patologia prevalentemente autolimitante in cui la principale manifestazione clinica è rappresentata dalla tracheobronchite¹; più raramente, questa infezione può essere letale per la pos-

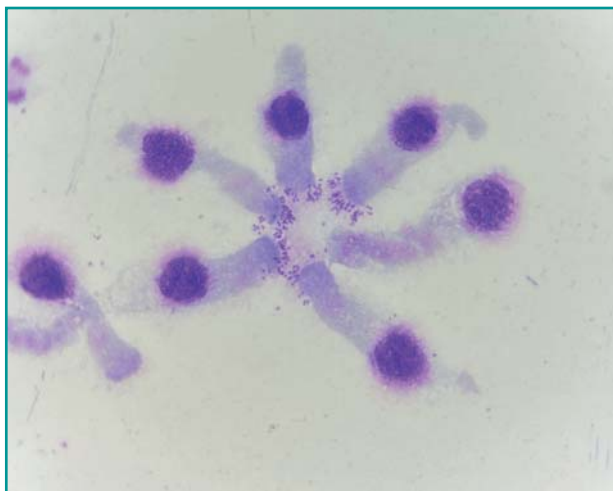


Figure 2 - BAL. Si osservano cellule dell'epitelio respiratorio colonnare ciliato sulla cui superficie apicale, adesi alla *cilia*, si osservano numerosi batteri di aspetto coccobacillare, in prima ipotesi riconducibili a *Bordetella bronchiseptica* (MGG, 100x).

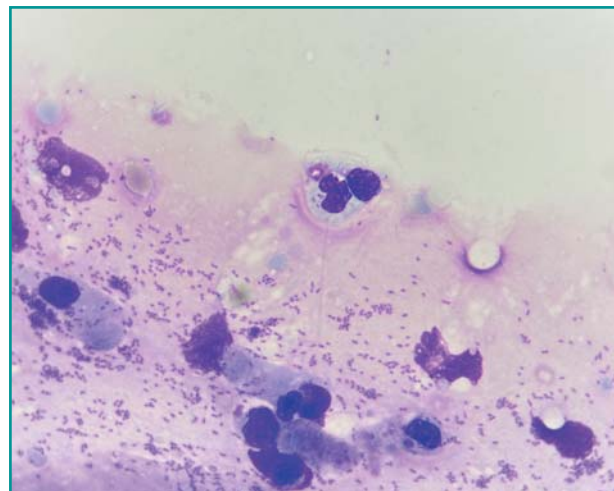


Figure 3 - BAL. Si osservano numerosi batteri di aspetto coccobacillare sparsi sul fondo e fagocitati da un granulocita neutrofilo (MGG, 100x).

sibile evoluzione in polmonite². *Bordetella bronchiseptica* colonizza gli epitelii ciliati del tratto respiratorio superiore; l'infezione cronica può svilupparsi come risultato di diversi meccanismi, tra cui l'adesione del batterio alle *cilia* mediante molecole di adesione, come fimbrie e agglutinine filamentose, e l'immunosoppressione locale³. Le coinfezioni batteriche sono riportate fino al 40% dei casi⁴. La diagnosi richiede procedure specifiche come la broncoscopia con prelievo mediante BAL per l'esecuzione sia dell'esame citologico che della coltura batterica. La presenza di *Bordetella bronchiseptica* può essere sospettata nei preparati citologici per una sua peculiare caratteristica, ovvero l'adesione alla sommità delle *cilia* delle cellule dell'epitelio respiratorio colonnare⁵; per questa ragione, il brushing bronchiale sembra essere più sensibile del BAL per l'identificazione citologica di *Bordetella bronchiseptica*, in quanto il traumatismo sull'epitelio fa sì che ci sia una maggior esfoliazione dello stesso, e quindi una maggior rappresentatività nei preparati citologici⁵. L'identificazione di questo patogeno all'esame citologico ha un'elevata specificità: possibili ma rari falsi positivi possono accadere in seguito a sovrapposizione sulle *cilia* di altri batteri di aspetto coccobacillare, come *Pasteurella* spp. e *Acinetobacter* spp.⁵ Nel nostro caso, nel BAL sono stati evidenziati sia numerosi batteri coccobacillari sparsi e fagocitati dai granulociti neutrofili (verosimilmente *Acinetobacter junii* in base all'esito della coltura batterica) che adesi saldamente alle *cilia* (verosimilmente *Bordetella bronchiseptica*). La diagnosi di *Bordetella bronchiseptica* può essere confermata mediante coltura batterica; tuttavia, la sensibilità di questo test per la ricerca di *Bordetella bronchiseptica* è inferiore a quella della PCR⁵. In presenza di un sospetto clinico e clinico-patologico specifico, e a fronte di un esame col-

turale batteriologico negativo, è consigliabile eseguire la PCR su differenti campioni (BAL, lavaggio transtra-
cheale, tampone faringeo)⁵.

La gravità clinica dell'infezione da *Bordetella bronchiseptica* dipende da diversi fattori, inclusa la coinfezione batterica. Dal punto di vista terapeutico, l'infezione da *Bordetella bronchiseptica* può essere trattata con gentamicina per via inalatoria³ mentre la superficie apicale dell'epitelio bronchiale, *in vivo*, non è suscettibile a farmaci antimicrobici come la doxiciclina.

BIBLIOGRAFIA

1. Schulz BS, Kurz S, Weber K *et al.* Detection of respiratory viruses and *Bordetella bronchiseptica* in dogs with acute respiratory tract infections. *The Veterinary Journal*, 201(3), 365-369, 2014.
2. Taha-Abdelaziz K, Bassel LL, Harness ML *et al.* Cilia-associated bacteria in fatal *Bordetella bronchiseptica* pneumonia of dogs and cats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1-8, 2016.
3. Canonne MA, Roels, Menard AE, Desquilbet M *et al.* Clinical response to 2 protocols of aerosolized gentamicin in 46 dogs with *Bordetella bronchiseptica* infection (2012-2018). *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1-8, 2020.
4. Fastrès A, Canonne MA, Taminiau B *et al.* Analysis of the lung microbiota in dogs with *Bordetella bronchiseptica* infection and correlation with culture and quantitative polymerase chain reaction. *Veterinary Research*, 51:46, 2020.
5. Canonne MA, Billen F, Tual C *et al.* Quantitative PCR and cytology of bronchoalveolar lavage fluid in dogs with *Bordetella bronchiseptica* infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 30(4), 1204-1209, 2016.



CERCHI-OFFRI LAVORO?

Il servizio è telematico, libero e gratuito. **Vet-Job** prevede l'utilizzo di un archivio on-line compilato e aggiornato dagli stessi medici veterinari che cercano oppure offrono proposte di lavoro. Il portale registra più di 50.000 visite mensili, con una media di 300 annunci al mese.

Per inserire la propria offerta o richiesta di lavoro è necessaria la registrazione al servizio. Al termine della registrazione il sistema fornirà all'utente un codice che, insieme alla password, consentirà di accedere all'area riservata per modificare/integrare/rimuovere le proprie inserzioni e la scheda dati personale.

Le inserzioni permangono in rete per 90 giorni; alla scadenza di questo periodo vengono rimosse automaticamente.

Registrazione e condizioni d'uso dettagliate al sito:

<http://www.vetjob.it/>

 **VET-JOB**
IL MERCATO ITALIANO DEL LAVORO VETERINARIO
Servizio on-line dell'A.N.M.V.I.