

L'esame citologico del lavaggio bronco-alveolare: potenzialità diagnostiche e limiti



Il lavaggio bronco-alveolare è una tecnica che, in corso di manovre diagnostiche di broncoscopia, permette di prelevare cellule esfoliate all'interno del lume delle basse vie respiratorie, allo scopo di allestire campioni per l'indagine citologica; le potenzialità diagnostiche, benché limitate a processi patologici coinvolgenti il lume delle cavità respiratorie, sono numerose e talora definitivamente diagnostiche del processo patologico in atto. L'articolo che segue si propone di descrivere gli aspetti citologici, normali e patologici, di alcune condizioni, tra cui quelle infiammatorie, gli agenti eziologici e alcune neoplasie, identificabili con questa metodica.



Carlo Masserdotti
Med Vet,
Dipl ECVPC,
Spec Bioch Clin
IAT, Brescia

INTRODUZIONE

La tecnica del lavaggio bronco-alveolare (Broncho-Alveolar Lavage, secondo la nomenclatura anglosassone o BAL) è diffusamente utilizzata come metodica di valutazione diagnostica di numerose malattie respiratorie^{1,2,3,4}; cause infiammatorie, infettive, parassitarie e talora neoplastiche possono essere indagate efficacemente con questo metodo, che rappresenta un complemento all'esame endoscopico, tecnica ormai estremamente diffusa di diagnostica per immagini a disposizione del clinico. Il caposaldo essenziale di questa tecnica, descritta compiutamente nei testi^{5,6} e nelle pubblicazioni specialistiche⁷, comporta l'introduzione di soluzione fisiologica a temperatura corporea nel lume bronco-alveolare, con cateteri che attraversano il canale di servizio dell'endoscopio, allo scopo di rimuovere cellule e agenti eziologici dalla superficie delle cavità respiratorie profonde, intrappolarli nel mezzo fluido e recuperarli attraverso aspirazione del liquido stesso; il materiale recuperato rappresenta quindi il substrato su cui, dopo allestimento op-

portuno, si applicano le valutazioni diagnostiche di tipo citomorfologico.

L'esame citologico del materiale prelevato tramite lavaggio dovrebbe rappresentare il complemento diagnostico dell'indagine broncoscopica corretta.

CENNI DI ANATOMIA NORMALE DELLE BASSE VIE RESPIRATORIE

L'epitelio delle vie respiratorie, che delimita la trachea e i bronchi, è rivestito da elementi colonnari dotati di apparato ciliare: il ruolo principale di questo apparato, denominato *escalator mucociliare* è quello di trasportare ed espettorare il materiale detritico inalato con l'aria, gli agenti eziologici e il detrito cellulare imbrigliato nei prodotti di secrezione dalle sedi profonde a quelle più superficiali tramite un movimento sincronizzato delle cilia apicali. Intercalate alle cellule colonnari ciliate, si localizzano

Tabella 1 - Valori percentuali delle sottopopolazioni leucocitarie presenti nel lavaggio bronco-alveolare del cane e del gatto⁶

	Cellule/ μ l	Macrofagi	Linfociti	Eosinofili	Neutrofili	Mastociti
Cane	<500	70-80%	6-14%	<5%	<5%	1-2%
Gatto	<400	70-80%	<5%	Fino al 25%	<5%	2%

le cellule caliciformi, con funzioni secretorie. Al di sotto della linea di cellule ciliate decorre una linea singola di *cellule cuboidali di riserva*, adibite a funzioni di turn-over e di rimpiazzo delle cellule caliciformi sovrastanti. Nello spessore della parete dei grandi bronchi si localizzano *ghiandole tubuloacinari*, direttamente connesse al lume respiratorio con brevi dotti. L'attività combinata di queste strutture ghiandolari con quella delle cellule caliciformi determina la produzione del secreto superficiale, costituito da una componente sieromucosa, di produzione ghiandolare e mucosa, prodotta dalle cellule caliciformi. La trachea ed i grandi bronchi sono supportati da strutture cartilaginee che garantiscono la pervietà del lume respiratorio e sono circondati da fasci di muscolatura liscia. I bronchi si diramano in *bronchioli*, privi del supporto cartilagineo e della dotazione ghiandolare, circondati dal solo supporto fibromuscolare, ed infine in *bronchioli respiratori*: questi ultimi sono delimitati da cellule cuboidali prive di cilia e da cellule secretorie denominate *cellule di Clara*. L'evoluzione terminale dell'albero respiratorio si completa negli *alveoli*, delimitati da *pneumociti di tipo I*, piatti e *pneumociti di tipo II*, cuboidali, secernenti il *surfattante*, ossia un materiale liquido che, per effetto della tensione superficiale, mantiene dilatato il lume alveolare, permettendo gli scambi gassosi; questi avvengono attraverso la barriera epiteliale degli pneumociti, per effetto dello scambio con il sangue che attraversa la sottilissima rete capillare sottostante. Nel lume alveolare è possibile rilevare la presenza dei *macrofagi alveolari* e sporadici leucociti, con funzioni fagiche e di sorveglianza immunitaria.

in numero sufficiente per essere osservate.

La raccolta di elementi cellulari tramite il lavaggio bronco-alveolare è influenzata, nel numero e nella distribuzione cellulare sul vetrino, dalla tecnica utilizzata per il lavaggio, per il recupero e per l'allestimento del liquido di lavaggio. In letteratura esistono valori di riferimento di normalità, sia come numero di cellule, sia come percentuali delle varie tipologie cellulari, ma non esiste una standardizzazione assoluta alla quale fare riferimento, poiché i vari lavori pubblicati mostrano variabilità notevolissime in uno o più dei passaggi, con i quali si prelevano cellule dai distretti bronchiolo-alveolari.

Le varie tecniche di lavaggio (singolo bolo o 2 - 3 aliquote), la quantità di liquido iniettato (5 ml/kg, 1-2 ml/5 kg, due boli da 25 ml ed in cani < 8 kg e gatti 4 boli da 10 ml, da 10 a 25 ml totali), la modalità di riaspirazione del liquido iniettato (velocità e tipo di siringa utilizzata, tecnica tramite aspiratore automatizzato) ed il tipo di allestimento del campione (centrifugazione e striscio, striscio "tal quale", citocentrifugazione) forniscono infatti dati variabili^{8,9}. Uno studio individua differenze statisticamente significative nel materiale ottenuto da lavaggio bronco-alveolare in cani normali di età diversa¹⁰. Per una trattazione completa ed esaustiva dei criteri di scelta delle tecniche di prelievo e dei metodi di allestimento si rimanda a testi specialistici³, in quanto la descrizione esula dagli obiettivi di questo lavoro.

Oltre ai dati pubblicati⁶ (Tabella 1) recentemente è stato calcolato il numero normale di cellule presenti in la-

La conoscenza della microanatomia delle basse vie respiratorie è cruciale nella comprensione dei quadri citologici normali e patologici.

CELLULE IDENTIFICABILI NEL LAVAGGIO BRONCO-ALVEOLARE

In contesto di normalità non sono rilevabili cellule polmonari quali le cellule di Clara o gli pneumociti di tipo I e II, poiché esse non esfoliano nel lume respiratorio

Tabella 2 - Conta differenziale su 500 cellule, ottenuta da due osservatori indipendenti, su preparati citocentrifugati da liquido di lavaggio bronco-alveolare di 40 cani¹¹

Tipo cellulare	Osservatore 1	Osservatore 2
Macrofagi	207,6 \pm 118,28	175,81 \pm 114,92
Neutrofili	203,81 \pm 150,82	213,68 \pm 158,65
Eosinofili	49,77 \pm 83,08	56,1 \pm 93,99
Linfociti	29,48 \pm 35,36	45,48 \pm 41,12
Cellule epiteliali	9,74 \pm 23,91	8,42 \pm 22,27

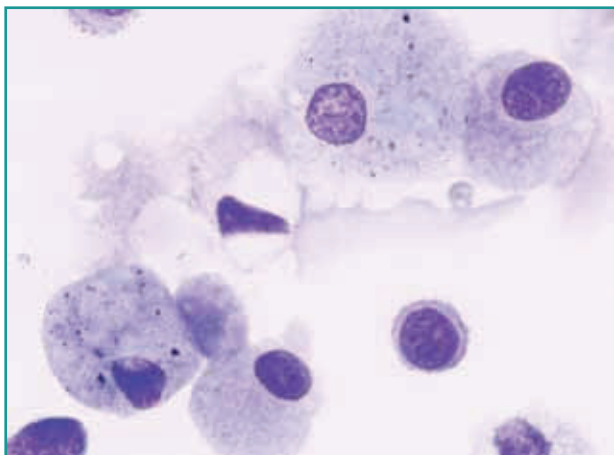


Figura 1 - Macrofagi alveolari; questi elementi presentano citoplasma rotondo, debolmente basofilo, contenente microglobuli acromatici; notare, in alcune cellule, la presenza di detrito antracotico, rappresentato da pigmento nerastro; la cellula centrale è un piccolo elemento epiteliale ciliato (MGG, 100X).

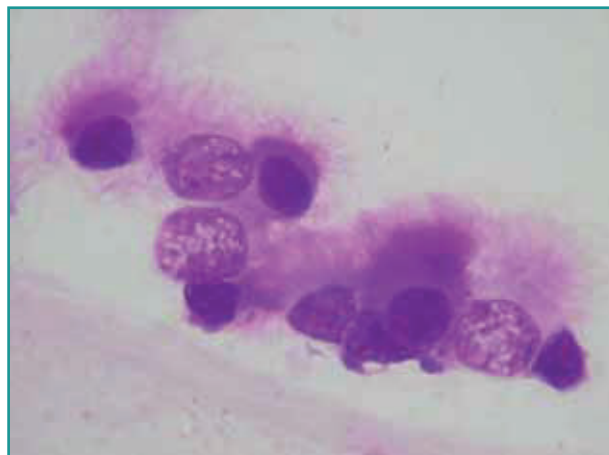


Figura 2 - Elementi epiteliali ciliati; il citoplasma è sormontato dall'apparato ciliare; notare il profilo tendenzialmente cuboidale, rappresentativo di elementi provenienti dai segmenti bronchiali profondi o bronchiolari e la linea di elementi cuboidali di riserva alla base dell'aggregato (MGG, 100X).

vaggi normali di cani in assenza di alterazioni dell'albero respiratorio¹¹. Le percentuali rilevate su campioni ottenuti in 40 cani normali, tramite una tecnica di lavaggio bronco-alveolare e di citocentrifugazione standardizzata, sono individuate nella Tabella 2¹¹.

L'esecuzione di una tecnica di prelievo ottimizzata e standardizzata permette di ottenere il materiale ideale per l'indagine citopatologica.

Di seguito verrà analizzato l'aspetto morfologico delle cellule che possono essere reperite nel lavaggio bronco-alveolare di pazienti normali.

Macrofagi alveolari: i macrofagi alveolari (Figura 1) derivano dal monocita circolante, ma possono provenire anche da fenomeni di transizione dello pneumocita di tipo II; risiedono all'interno del lume alveolare con funzioni di sorveglianza immunitaria e di eliminazione del detrito atmosferico che si accumula in questa sede. Citologicamente essi si caratterizzano per profilo rotondeggiante e citoplasma debolmente basofilo, talora ingombrato dal cosiddetto "*detrito antracotico*", un materiale nerastro granulare, che rappresenta il detrito atmosferico rimosso per fagocitosi dalla superficie alveolare, in

quantitativo direttamente dipendente dall'inquinamento e dalla qualità dell'aria respirata dal soggetto^{5,6,7}. I macrofagi alveolari possono presentarsi anche a citoplasma occupato da microglobuli acromatici, come segno specifico di attivazione.

Cellule epiteliali: possono essere presenti rari elementi epiteliali a citoplasma cuboidale, contenenti nucleo rotondo a cromatina compatta, singoli, in piccoli aggregati o in filiere, provenienti dai distretti distali dei bronchi o dai bronchioli; questi elementi possono talora esibire apparato ciliare apicale (Figura 2); nei campioni ottenuti con tecnica di lavaggio bronco-alveolare la presenza di elementi epiteliali ciliati è tuttavia molto rara: in alcuni casi, soprattutto se il prelievo bagna distretti bronchiali, è possibile osservare la presenza di elementi epiteliali cilindrici ciliati occasionali; il citoplasma di queste cellule presenta profilo colonnare, è dotato di apparato ciliare apicale^{5,6,7} e contiene un nucleo rotondo od ovoidale a cromatina granulare o compatta, frequentemente localizzato alla base del citoplasma; gli elementi ciliati possono esfoliare singoli o aggregarsi in piccoli gruppi, talora con disposizione in palizzata. Si sottolinea che l'aspetto morfologico delle cellule prelevate con metodiche di lavaggio bronco-alveolare è frequentemente alterato da aspetti degenerativi e che, conseguentemente, il loro riconoscimento può risultare difficoltoso.

Cellule caliciformi: altrettanto rare, in quanto localizzate nei segmenti bronchiali, presentano citoplasma analogamente caliciforme o cilindrico, privo di apparato ciliare, ma dotato di grandi globuli rotondeggianti intensamente eosinofili (Figura 3), costituiti da materiale secretorio e nucleo rotondo od ovoidale a cromatina compatta^{5,6,7}.

La presenza dei macrofagi alveolari nei campioni citologici garantisce che il materiale prelevato proviene dalle aree respiratorie più profonde e, soprattutto, dal lume alveolare.



Figura 3 - Cellula caliciforme; il citoplasma è colonnare ma privo di cilia, dilatato per accumulo di materiale globulare eosinofilo di origine secretoria (MGG, 100X).

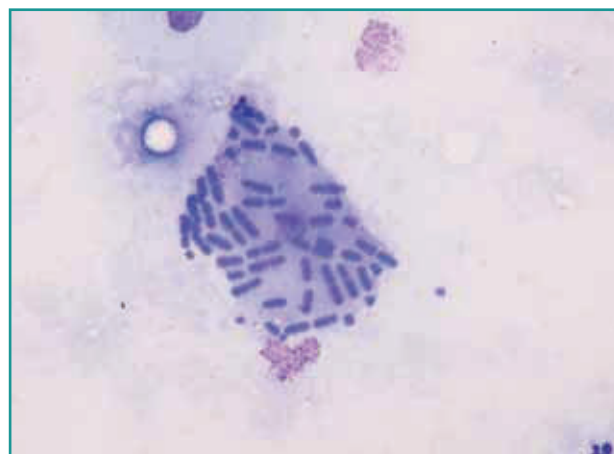


Figura 4 - Cellula epiteliale cheratinizzata di origine oro-faringea; notare i batteri numerosi del genere *Simonsiella* spp., che aderiscono alla sua superficie ((MGG, 40X).

Mentre la presenza dei macrofagi alveolari è imprescindibile per stabilire l'idoneità del prelievo, cellule epiteliali e leucociti possono essere assenti da un prelievo eseguito correttamente.

Leucociti: sono occasionali in condizioni di normalità (Tabella 1 e 2) e sono rappresentati dai *granulociti neutrofili*, che presentano la tipica conformazione a citoplasma rotondo e nucleo polilobato, dai *granulociti eosinofili*, caratterizzati, oltre che per il nucleo frequentemente bilobato, per i granuli citoplasmatici di colore arancio, dai *linfociti*, a scarso citoplasma basofilo e nucleo rotondo ipercromatico e a volte da *plasmacellule*, con dimensioni lievemente superiori al linfocita, a citoplasma basofilo contenente alone perinucleare corrispondente all'apparato del Golgi e nucleo rotondo a cromatina zollata, para-

centrale o eccentrico. Occasionalmente è possibile rilevare alcuni *mastociti*, riconoscibili per il citoplasma rotondeggiante fittamente ingombro da granuli metacromatici e per il nucleo rotondo centrale o paracentrale a cromatina compatta.

Cellule da contaminazione orofaringea: sulla base della scelta del metodo di prelievo, la superficie dello strumento scelto per il campionamento può, all'atto del passaggio, determinare abrasione della superficie del cavo orofaringeo, prima di raggiungere la trachea e conseguentemente determinare la presenza artefattuale di cellule epiteliali, che generalmente manifestano citoplasma poligonale cheratinizzato, nucleo rotondo o picnotico e talora l'adesione superficiale di elementi batterici, quali *Simonsiella* spp.¹², comune commensale non patogeno (Figura 4).

Materiale proteinaceo trabecolare: per effetto della minima at-

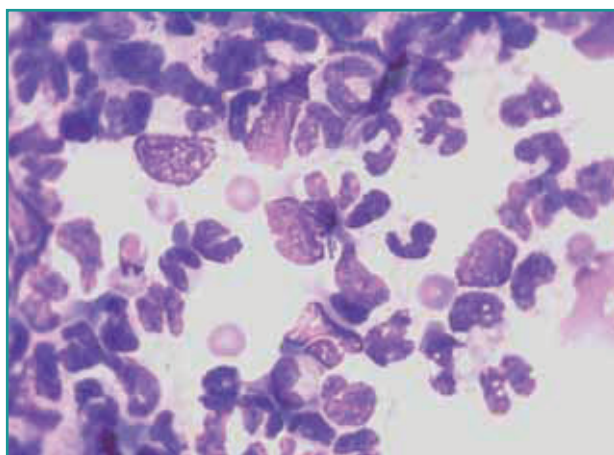


Figura 5 - Granulociti neutrofili segmentati e cariolitici, uno dei quali, al centro dell'immagine, in fagocitosi di batteri coccoidi (MGG, 100X).

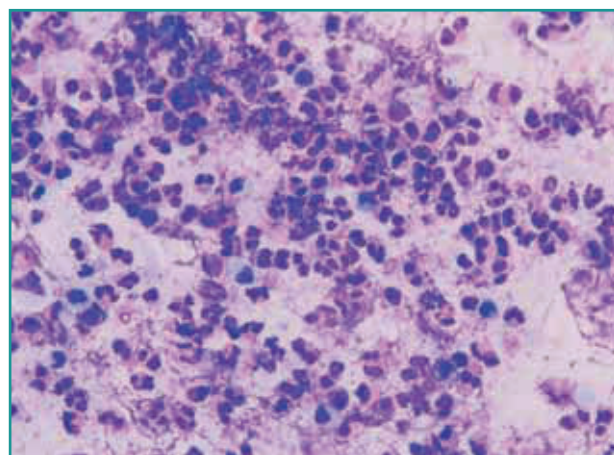


Figura 6 - Granulociti eosinofili, identificabili per il citoplasma occupato da granuli color rosa-arancio (MGG, 100X).

tività secretoria dell'albero respiratorio normale, è possibile rilevare scarso materiale proteinaceo eosinofilo organizzato in striature filamentose dense, nel cui contesto possono restare imbrigliati gruppi di cellule¹³.

CITOLOGIA PATOLOGICA

È necessario che il quadro citologico sia sempre interpretato sulla base dei dati anamnestici, clinici, laboratoristici e strumentali a disposizione e alla luce di eventuali terapie in atto. Le categorie patologiche che possono essere indagate con l'esame citologico sono classificabili sulla base della prevalenza di una popolazione cellulare infiammatoria o non infiammatoria.

FLOGOSI

Le categorie infiammatorie possono essere classificate come segue, sulla base del tipo cellulare flogistico dominante¹⁴.

I granulociti neutrofili sono cellule infiammatorie estremamente rappresentate nei processi patologici delle vie respiratorie e nella maggior parte dei casi hanno significato aspecifico.

Flogosi prevalentemente neutrofila. Il granulocita neutrofilo è una cellula infiammatoria che interviene in numerosissimi processi patologici, sia acuti che cronici, e conseguentemente la sua presenza è aspecifica¹⁵. La presenza dei neutrofili assume un ruolo patologico solamente al di sopra di una determinata percentuale delle cellule nucleate, generalmente superiore ai valori indicati dagli intervalli di normalità precedentemente segnalati^{6,11}; è indispensabile stabilire se il neutrofilo presenti aspetto segmentato o se sia interessato da fenomeni degenerativi. La presenza di granulociti neutrofili segmentati è verosimilmente da imputare a fenomeni infiammatori, quali per esempio inalazione di agenti irritanti. Le alterazioni degenerative si associano generalmente a condizioni infiammatorie su base settica, eventualmente conseguenti alla fagocitosi di agenti eziologici batterici (Figura 5) da parte della componente neutrofila⁵. Tra le cause che evocano flogosi suppurativa non sono annoverate necessariamente solo condizioni infettive; infatti neutrofili segmentati o degenerati possono essere presenti in corso di irritazione da agenti presenti nell'atmosfera, da malattie primarie luminari o interstiziali del parenchima polmonare o da neoplasie⁵.

Flogosi prevalentemente eosinofila. La flogosi eosinofila è facile da riconoscere (Figura 6), in quanto questo tipo cellulare presenta, oltre al nucleo lobulato, granuli citoplasmatici di colore arancio, che nel cane assumono aspetto rotondo e nel gatto forma bastoncellare; tuttavia nei campioni di lavaggio, presumibilmente per effetti arte-

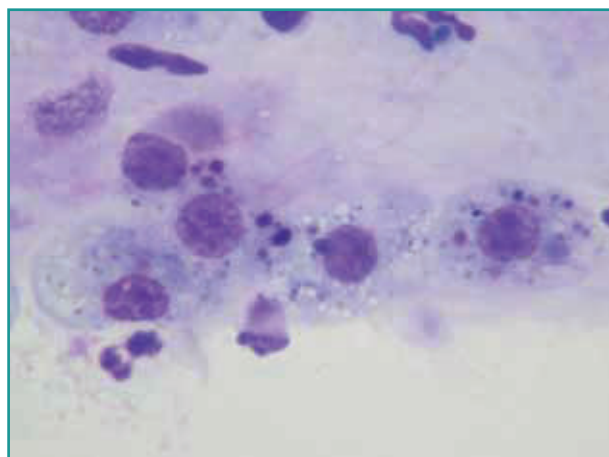


Figura 7 - Macrofagi in attività di fagocitosi di emosiderina, riconoscibile per l'aspetto microglobulare e il colore bruno-nero (MGG, 100X).

fattuali, queste cellule presentano talora citoplasma contenente un unico globulo voluminoso di colore arancio e nucleo rotondo coartato. In alcuni casi, a seguito di ressi citoplasmatici, può verificarsi la dispersione dei granuli sul fondo dell'allestimento. Per emettere una diagnosi di flogosi eosinofila è importante valutare le percentuali relative di questo tipo cellulare: si consideri che nel cane, soprattutto in soggetti che vivono in appartamento e sottoposti a profilassi antiparassitarie regolari, la percentuale della componente eosinofila è generalmente bassa (<5% delle cellule infiammatorie)⁶ ma che in cani che vivono all'aperto il valore di questa percentuale può aumentare fino al 24%¹⁶; nel gatto possono essere calcolate conte percentuali degli eosinofili fino al 20-25% in soggetti asintomatici¹⁷. Appare conseguentemente evidente che una diagnosi definitiva deve essere mediata necessariamente dal confronto con i dati clinici e strumentali della broncopatia in esame⁵. La flogosi eosinofila è da attribuire soprattutto a processi di ipersensibilità⁵, quali le forme allergiche responsabili di malattie asmatiche, oppure a malattie parassitarie. Cause di aumento dei granulociti eosinofili nel materiale di lavaggio bronco-alveolare sono descritti in corso di granuloma eosinofilo, di aspergillosi, di neoplasia e raramente in corso di polmonite batterica¹⁸.

Flogosi prevalentemente macrofagica. Il riscontro di macrofagi alveolari in campioni citologici ottenuti per lavaggio bronco-alveolare è da ritenersi normale quando nei limiti di conta cellulare precedentemente elencati^{6,13}. Tuttavia, l'aumento della quota di macrofagi alveolari può essere dipendenza diretta dei metodi di prelievo e allestimento e assume significato aspecifico. La presenza contemporanea di macrofagi e granulociti neutrofili può essere determinata da condizioni irritative a carico della mu-

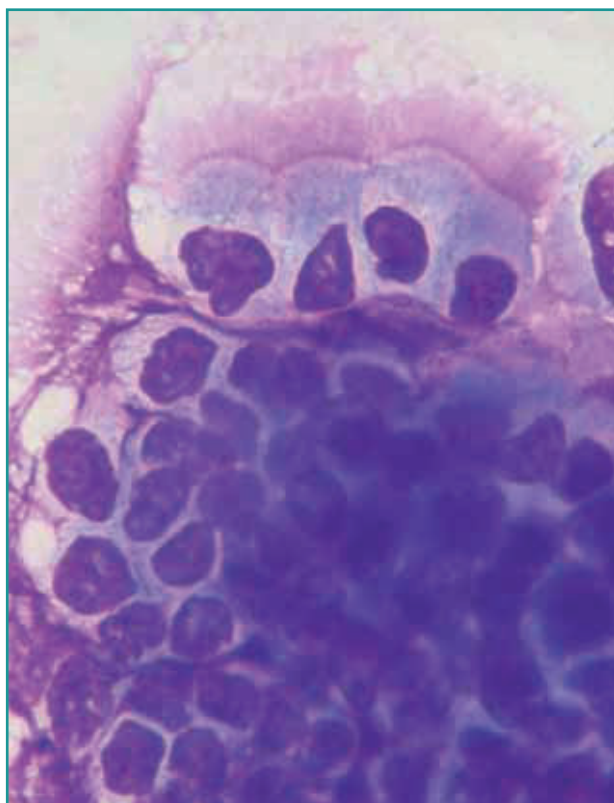


Figura 8 - Iperplasia delle cellule di riserva: al di sotto della linea epiteliale ciliata si rileva la connessione con filiere multiple di cellule cuboidali a scarso citoplasma indistinto e nucleo rotondo a cromatina compatta (MGG, 100X).

cosa bronchiale¹⁵, derivanti da inalazione di sostanze tossiche gassose, come fumo o agenti atmosferici inquinanti, o liquide come nel caso della polmonite *ab ingestis*¹⁵. La flogosi macrofagica e neutrofila è frequente in corso dell'azione patogena sostenuta da microrganismi di origine virale, batterica, protozoaria, fungina e parassitaria. Il materiale oggetto di fagocitosi macrofagica permette considerazioni relative al riconoscimento della causa. Il *detrito antracotico* è rappresentato da pigmento nero che, come precedentemente affermato, rappresenta il risultato dell'attività di rimozione, da parte dei macrofagi, delle particelle sospese nell'aria; globuli acromatici a margini netti sono generalmente espressione di fagocitosi di *detrito lipidico*, che può provenire sia da processi di distruzione cellulare e conseguente accumulo di lipidi di membrana, sia da fagocitosi di detrito esogeno, come in corso di aspirazione accidentale di cibo o sostanze somministrate forzatamente, come l'olio di vaselina^{19,20}. L'*eri-*



Figura 9 - Iperplasia degli pneumociti di tipo II: queste cellule, non rilevabili in condizioni di normalità, si caratterizzano per modesti aspetti di atipia, rappresentati da dismetria moderata del nucleo, talora doppio, irregolarità della distribuzione della cromatina e piccolo nucleolo; notare il tipo di aggregazione "a petalo di fiore" (MGG, 100X).

trofagocitosi è un fenomeno di rimozione di eritrociti, conseguente a malattie broncopulmonari che abbiano determinato sanguinamento luminale, quali traumi, disordini della coagulazione, ressi vascolare di masse neoplastiche, oppure in corso di cardiomiopatie con congestione polmonare^{21,22}. I macrofagi alveolari rimuovono i globuli rossi e li degradano, con lo scopo principale di recuperare il gruppo eme, da destinare alla rigenerazione eritrocitaria nelle sedi di ematopoiesi; alla fagocitosi eritrocitaria, riconoscibile per l'incorporazione di eritrociti all'interno del citoplasma dei macrofagi, segue la distruzione e la digestione del globulo rosso, con accumulo di globuli irregolari di aspetto basofilo, verde scuro o nero, definito con il termine di *emosiderina* (Figura 7). I macrofagi possono intervenire anche nella rimozione di materiale secretorio, prodotto dalle cellule caliciformi o dalle ghiandole bronchiali, che si presenta sotto forma di globuli eosinofili intracitoplasmatici.

Flogosi prevalentemente linfoplasmacellulare. Questo tipo flogistico è relativamente raro e rappresentato da una prevalenza di linfociti, associati a percentuali variabili di plasmacellule¹⁴. Generalmente questa presentazione morfologica esprime una flogosi cronica associata ad una reattività da stimolazione immunitaria, che può conseguire ad infezioni croniche, a disordini immunomediati o a condizioni di iperreattività²³. Recentemente la linfocitosi è stata correlata a condizioni irritative croniche aspecifiche²⁴.

Il riconoscimento della natura del materiale fagocitato dai macrofagi può rappresentare la chiave diagnostica in alcuni processi patologici.

ALTERAZIONI IPERPLASTICHE/DISPLASTICHE DELL'EPITELIO

L'epitelio che delimita le vie respiratorie, quando sottoposto a stimoli irritativi cronici, può manifestare al-

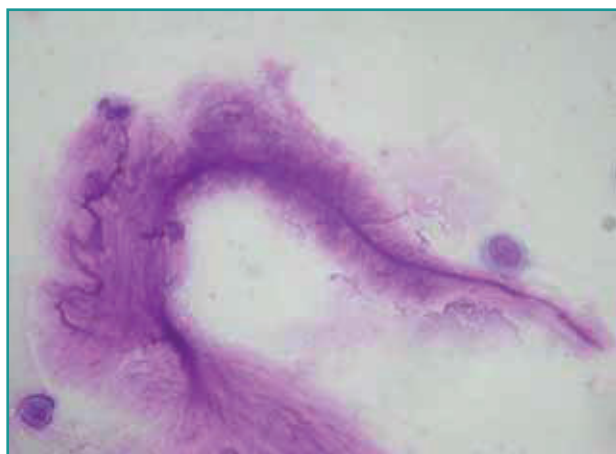


Figura 10 - Spirale di Curschmann; la struttura si caratterizza per la distribuzione di materiale denso eosinofilo attorno al core spirale (MGG, 100X).

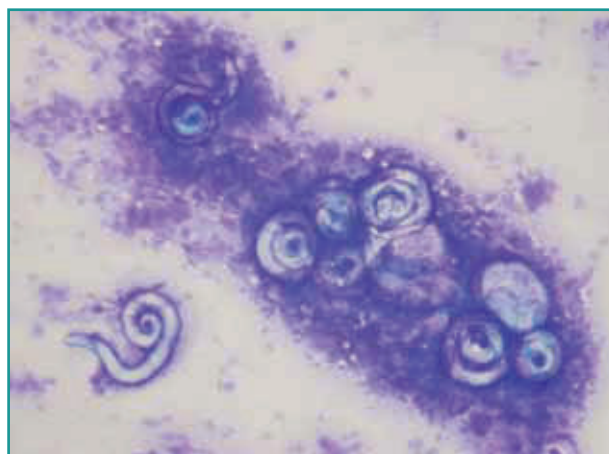


Figura 11 - Larve di *Aelurostrongylus abstrusus* (MGG, 20X).

Le alterazioni cellulari di tipo iperplastico e displastico possono mimare quelle neoplastiche e conseguentemente il loro significato diagnostico deve essere sempre valutato alla luce dei dati clinici e anamnestici della lesione campionata.

terazioni morfologiche di tipo iperplastico o displastico^{5,6}; nei casi in cui il lavaggio bronco-alveolare bagni superfici bronchiali, tra le alterazioni in esame si annoverano l'*iperplasia reattiva*, che si manifesta con aumento della basofilia, a volte con vacuolizzazione del citoplasma e con nuclei a cromatina granulare, talora doppi o multipli; le cellule caliciformi possono presentare citoplasma più ampio, repleto di grandi globuli secretori, talora riversati all'esterno della cellula. L'*iperplasia delle cellule di riserva* si manifesta con aumento del numero delle cellule della filiera localizzata sotto gli elementi ciliati (Figura 8), eventualmente con iperbasofilia citoplasmatica. Fenomeni displastici dell'epitelio sono frequenti e fanno seguito generalmente a processi di stimolazione cronica ed intensa a carico delle mucose respiratorie; l'epitelio bronchiale può esfoliare sotto forma di aggregati di elementi a citoplasma colonnare o rotondeggiante, basofilo, occupato da un nucleo dismetrico con alterazioni di distribuzione della cromatina e nucleolo prominente; in linea di massima la presenza di cilia, in almeno alcune delle cellule dell'aggregato, è di ausilio nella distinzione tra un processo displastico e un processo neoplastico, dove generalmente le cilia sono assenti²⁵.

L'*iperplasia degli pneumociti di tipo II*, condizione rara e scarsamente descritta, coinvolge alcuni elementi epiteliali che delimitano gli alveoli: questi elementi, non rilevabili in condizioni di normalità, possono presentarsi, quando interessati da iperplasia, come piccole cellule rotondegianti, generalmente in aggregato, a citoplasma variabilmente

basofilo e nucleo rotondo, modicamente dismetrico, a cromatina irregolare, frequentemente nucleolato^{26,27} (Figura 9): le alterazioni evidenziate sono talora tali da dover essere discriminate con attenzione per differenziarle da quelle mostrate da cellule neoplastiche maligne²⁷. Sia l'iperplasia che la displasia sono alterazioni

morfologiche potenzialmente reversibili, che possono regredire qualora si interrompa lo stimolo flogistico

responsabile.

Condizioni di stimolazione irritativa cronica possono infine determinare quadri di *metaplasia squamosa* delle cellule bronchiali, che da colonnari e ciliate assumono aspetto poligonale con citoplasma cheratinizzato^{5,28}; questa alterazione è generalmente irreversibile, anche se rilevabile raramente.

FIGURE NON CELLULARI

In generale, ogni condizione irritativa a carico della mucosa respiratoria può essere causa di aumentata secrezione da parte delle cellule caliciformi o delle strutture ghiandolari subepiteliali, con aumento conseguente del materiale mucoso presente negli allestimenti ottenuti per broncolavaggio²⁸. Si verifica pertanto l'accumulo del materiale di secrezione all'interno del lume respiratorio, ma soprattutto come conseguenza delle sue caratteristiche chimiche, il muco può addensarsi in striature molto dense, denominate *spirali di Curschmann* (Figura 10), perché a volte assumono un aspetto a spirale, costituite da un *core* denso e da una porzione circostante più lassa²⁹.

I *corpi dell'asbesto* sono strutture bastoncellari costituite da un asse lineare e da due dilatazioni a forma di clava terminali, attorno al quale si avvolge una stretta spirale filamentosa; il loro riconoscimento è importante soprattutto nell'identificazione di inquinamento ambien-

tale da amianto, fonte di potenziale rischio per la salute umana oltre che animale³⁰.

AGENTI EZIOLOGICI

Le infezioni virali non sono identificabili con facilità tramite le metodiche di lavaggio bronco-alveolare. Per quanto riguarda le malattie ad eziologia batterica, i rilievi citologici permettono l'identificazione di forme batteriche coccoidi, bastoncellari o filamentose, generalmente fagocitate dalla componente flogistica di tipo granulocitario neutrofilico, che si presenta di aspetto cariolitico, ma sono insufficienti nell'identificazione della specie patogena, per il cui riconoscimento è indispensabile un esame colturale, condotto nel rispetto delle tecniche di campionamento microbiologico³¹. Secondo uno studio, organismi batterici patogeni sono isolabili con esame colturale, eseguito su materiale di lavaggio bronco-alveolare, prelevato da cani, nei quali non era possibile dimostrarne citologicamente la presenza³².

Il riconoscimento di agenti eziologici batterici o fungini può esprimere condizioni di contaminazione o colonizzazione e non necessariamente correlarsi ad una diagnosi di malattia infettiva.

Tra le malattie protozoarie si ricorda la possibilità, nel gatto, di riscontrare forme flogistiche miste sostenute da *Toxoplasma spp.*, i cui tachizoiti sono caratterizzati da forma allungata e piccolo nucleo centrale, generalmente fagocitati dalle cellule macrofagiche³³. Anche *Leishmania spp.* può rendersi responsabile di forme infiammatorie^{34,35}, benché non esistano segnalazioni riferibili alla sua identificazione tramite metodiche citologiche su materiale ottenuto per lavaggio bronco-alveolare.

L'esame citologico è inoltre utile nel riconoscimento di agenti eziologici fungini, causa rarissima di malattie delle basse vie respiratorie³⁶; i miceti sono riconoscibili soprattutto per la presenza di un protoplasma basofilo e la presenza frequente di una parete cellulare acromatica, osservabile sia nella forma globosa delle artrospore che in quella allungata e segmentata delle ife lineari o ramificate.

Pneumocystis carinii è un fungo opportunisto, in grado di causare broncopneumopatie nel cane, ma il suo riconoscimento con indagine citologica è difficoltoso e sono preferiti metodi di diagnosi tramite tecniche di biologia molecolare³⁷.

Tra gli agenti eziologici parassitari, è possibile riconoscere *Aelurostrongylus abstrusus*, parassita polmonare del gatto, che colpisce con maggior prevalenza soggetti a vita soprattutto rurale (Figura 11); la forma adulta vive all'interno dei bronchioli respiratori e depone uova da cui

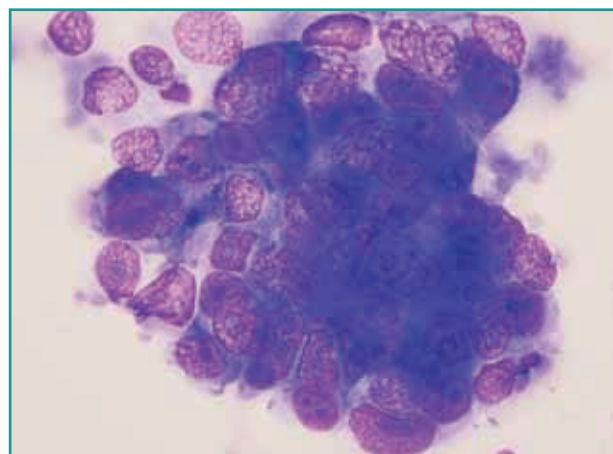


Figura 12 - Carcinoma polmonare; notare il citoplasma rotondeggiante indistinto, il nucleo dismetrico, la cromatina grossolana, i nucleoli prominenti, l'organizzazione in voluminoso aggregato discoeso e, soprattutto, l'assenza di cilia (MGG, 100X).

nascono le larve, a forma allungata, che possono raggiungere dimensioni di 400 µm, sono frequentemente arrotolate e caratterizzate da una coda ad uncino ripiegata ad "S", associata ad un'appendice accessoria; le larve raggiungono attivamente i grandi bronchi, la trachea, vengono ingerite ed emesse con le feci.

Dirofilaria immitis può manifestarsi in corso di lavaggio bronco-alveolare a seguito della fuoriuscita di stadi larvali dal circolo arteriolare. La larva ha aspetto lineare, lunghezza di circa 290-330 µm e coda affusolata e dritta. Sono inoltre morfologicamente riconoscibili, quanto meno su base presuntiva, infestazioni da altri nematodi, quali *Capillaria (Eucoleus) aerophila (aerophilus)*³⁸, *Filaroides hirtii*, *Crenosoma vulpis*, *Oslerus osleri*, *Paragonimus kellicotti*, *Angiostrongylus vasorum*^{39,40}.

Per molte malattie parassitarie delle vie respiratorie esistono metodi alternativi di diagnosi che possono evitare al paziente l'anestesia e le manovre di broncolavaggio.

L'esame citologico da liquido ottenuto tramite lavaggio bronco-alveolare è una tecnica utile per la diagnosi di molte malattie parassitarie, malgrado un semplice esame delle feci, per la ricerca di uova o strutture larvali, possa essere sufficiente; in alcuni casi è invece indispensabile un esame sierologico specifico^{41,42}.

NEOPLASIE DELLE BASSE VIE RESPIRATORIE

Le neoplasie primarie o metastatiche del polmone e dell'albero respiratorio possono essere diagnosticate mediante metodiche di lavaggio bronco-alveolare o

di agoaspirazione^{6,43,44}.

Il valore diagnostico dell'esame citologico effettuato per lavaggio bronco-alveolare è limitato, subordinato alla localizzazione luminale della neoplasia ed all'esfoliazione di elementi neoplastici nel lume respiratorio⁴³; masse neoplastiche che crescono al di sotto della linea dell'epitelio respiratorio, quali neoplasie mesenchimali, metastasi di neoplasie extrapolmonari o infiltrati rotondocellulari, possono infatti sfuggire all'indagine citologica⁵. Tramite la tecnica di lavaggio bronco-alveolare e di prelievo sotto guida endoscopica, nei casi in cui la manualità sia effettuata a ridosso dell'area sospetta, è possibile aumentare la probabilità di prelievo di cellule diagnostiche; nei casi invece in cui la neoplasia sia situata in segmenti distali dell'albero respiratorio e difficile da raggiungere con la tecnica in esame, è consigliabile procedere alla diagnosi con tecniche agoaspirative.

Mentre l'incidenza delle neoplasie polmonari primarie è generalmente modesta⁴⁵ sia nel cane, sia nel gatto, frequenti sono le localizzazioni metastatiche di neoplasie a primitività mammaria, ossea, splenica, soprattutto di tipo endoteliale, renale, prostatica, melanocitaria ed i coinvolgimenti polmonari in corso di condizioni neoplastiche sistemiche, quali il linfoma o le neoplasie istiocitarie maligne⁴⁴. Come precedentemente sottolineato, la possibilità di effettuare una diagnosi con l'esame citologico di materiale proveniente da metodiche di lavaggio bronco-alveolare è subordinato all'esfoliazione degli elementi neoplastici nel lume respiratorio e alla tecnica con cui viene eseguito il prelievo⁴⁶.

Le neoplasie epiteliali primarie delle basse vie respiratorie sono rappresentate soprattutto dal carcinoma⁴⁷ e possono insorgere in sede bronchiale, bronchiolare o bronchioloalveolare, derivando da elementi progenitori, tra cui le cellule basali e le cellule secretorie dei grandi bronchi, dalle cellule secretorie non-ciliate e dagli pneumociti di tipo II nelle unità terminali bronchiolari⁴⁷. Si osserva capacità di invasione vascolare linfatica nel 71% dei tumori maligni polmonari primari del cane e una localizzazione metastatica linfonodale ilare nel 23% dei casi⁴⁷; il carcinoma squamoso e il carcinoma anaplastico sono dotati di una maggior potenzialità metastatizzante, se paragonata a quella dell'adenocarcinoma e del carcinoma bronchioloalveolare⁴⁷. Tuttavia, malgrado l'importanza del riconoscimento del tipo neoplastico, istologicamente una distinzione precisa dell'origine e del pattern di crescita può essere complessa, in quanto sono possibili insorgenze da siti diversi e la sede primaria può non essere valutabile in neoplasie aggressive a crescita e ad espansione rapida⁴⁷; nel cane il tumore prevalente è rappresentato dal carcinoma bronchioloalveolare, mentre nel gatto la neoplasia prevalente è l'adenocarcinoma⁴⁷: si consideri tuttavia che queste neoplasie possono manifestare aspetti morfologici differenti all'interno delle stesse aree

patologiche ed esibire pattern secretorio, tubulare, papillare o differenziazione squamosa⁴⁷; conseguentemente la presentazione citologica, malgrado eloquente per una diagnosi di neoplasia, soprattutto se supportata dai dati clinici e anamnestici, può risultare insufficiente nella distinzione tra una neoplasia primaria o metastatica e nella classificazione delle neoplasie primarie.

La presenza di criteri di malignità nelle cellule epiteliali di esfoliazione luminale è utilizzata come criterio per la diagnosi relativa alla localizzazione polmonare di un carcinoma^{48,49}. Nell'esperienza dell'autore, la presenza di elementi epiteliali neoplastici è generalmente individuata da aggregati di cellule a citoplasma basofilo, privo di ciglia^{25,47}, contenente nucleo rotondo dismetrico, a cromatina grossolana, talora nucleolato; gli elementi neoplastici tendono ad organizzarsi in pseudopapille, rappresentate da aggregati tridimensionali, la cui forma ricorda l'aspetto di una morula (Figura 12); in rari casi di carcinomi scarsamente differenziati è possibile osservare cellule singole o in piccoli gruppi discoesi, con caratteri citoplasmatici e nucleari analoghi a quanto descritto precedentemente. Le cellule neoplastiche possono frequentemente associarsi a flogosi neutrofilica e macrofagica; questa associazione rende la diagnosi ulteriormente difficoltosa, in quanto, in corso di processi flogistici non neoplastici si possono verificare fenomeni di iperplasia o displasia epiteliale, soprattutto a carico degli pneumociti di tipo II, come precedentemente descritto⁵⁰.

Il carcinoma *adenosquamoso* è raro e può insorgere in sede polmonare soprattutto a carico dei grandi bronchi oppure rappresentare una variante del carcinoma bronchiale; in questo caso, accanto a cellule come da descrizione precedente, è possibile individuare aspetti di maturazione squamosa, costituiti da citoplasma a profilo poligonale e di aspetto cheratinizzato (Figura 13)⁵¹.

Nel polmone è possibile l'insorgenza di neoplasie mesenchimali maligne a sede interstiziale, tra cui il fibro-

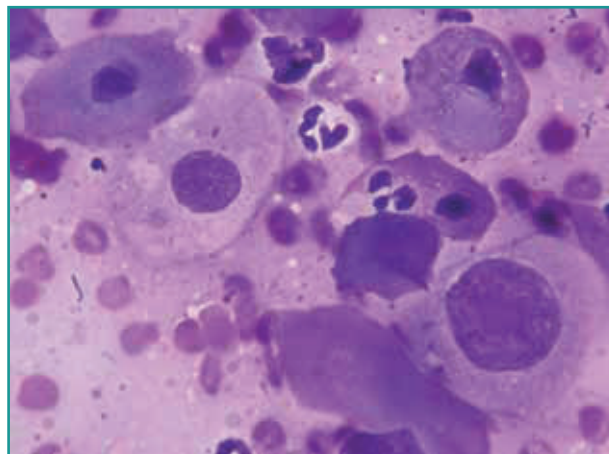


Figura 13 - Carcinoma polmonare squamoso: le cellule esfoliate evidenziano citoplasma cheratinizzato e nucleo rotondo dismetrico, a cromatina grossolana, nucleolato (MGG, 100X).

sarcoma e il condrosarcoma⁴⁷. È opportuno ricordare che nessuna tecnica che preveda esfoliazione cellulare di superficie è idonea alla diagnosi di neoplasie mesenchimali, per il loro carattere di crescita profonda, al di sotto delle linee di copertura epiteliale e che solo le tecniche di agoaspirazione od agoinfissione permettono di allestire campioni significativi.

Il metodo di lavaggio bronco-alveolare permette di prelevare elementi cellulari provenienti da neoplasie che raggiungono il lume respiratorio, ma è generalmente inefficace nella valutazione di neoplasie primarie che si sviluppano al di sotto delle linee epiteliali superficiali.

Malgrado caratterizzate soprattutto da distribuzione interstiziale ed essere conseguentemente target per l'esame citologico tramite prelievo agoaspirativo del parenchima patologico, le neoplasie rotondocellulari possono esfoliare nel lume e presentare i caratteri morfologici abituali. La diagnosi di linfoma, soprattutto del tipo a grandi cellule, è basata sul riconoscimento di elementi linfoidi di grandi dimensioni a scarso citoplasma basofilo e nucleo rotondo a cromatina granulare o zollata, potenzialmente dotato di nucleolo, talora in attività mitotica atipica, il cui aspetto morfologico (Figura 14) può risultare alterato dalla permanenza degli elementi neoplastici nel lume respiratorio⁵².

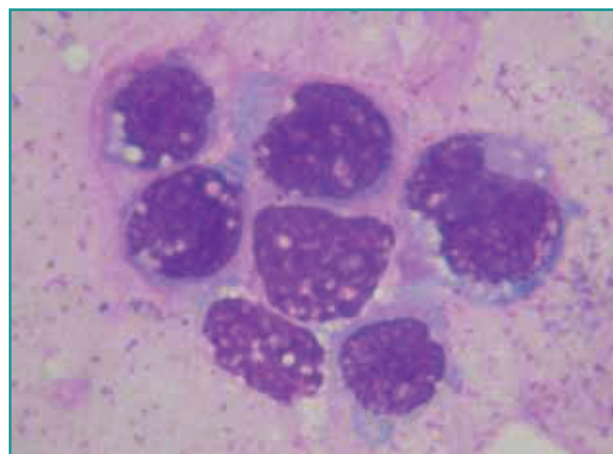


Figura 14 - Linfoma polmonare; gli elementi linfoidi neoplastici possono talora esfoliare nel lume respiratorio, manifestando grandi dimensioni, citoplasma rotondo, variabilmente basofilo, contenente microglobuli acromatici e nucleo rotondo a cromatina grossolana (MGG, 100X).

CONCLUSIONI

Il lavaggio bronco-alveolare è una tecnica che permette di ottenere materiale per l'esame citologico; le informazioni diagnostiche sono diretta conseguenza dell'esfoliazione, all'interno del lume respiratorio, di elementi cellulari, di materiale acellulare o di agenti eziologici; malgrado i limiti, la tecnica permette di identificare numerosi processi patologici primari e secondari, soprattutto se correlata ai dati clinici, anamnestici e strumentali.

PUNTI CHIAVE

- L'esame citologico del materiale ottenuto per lavaggio bronco-alveolare permette valutazioni diagnostiche complementari all'indagine broncoscopica, relative a numerosi processi patologici infiammatori e neoplastici.
- Le valutazioni citomorfologiche assumono significato soprattutto se il processo patologico in atto coinvolge le vie aeree, determinando la localizzazione di cellule diagnostiche, parassiti o figure non cellulari nel lume respiratorio.
- Malgrado le potenzialità diagnostiche, il riconoscimento di alcuni processi patologici può essere aspecifico, come nel caso della flogosi suppurativa o linfocitaria oppure fornire indicazioni dubbie, come nel caso delle alterazioni di tipo iperplastico e displastico a carico dell'epitelio.

Cytological examination of bronchoalveolar lavage fluid: potentials and limitations

Summary

Bronchoalveolar lavage is a sampling technic that allows to collect, via bronchoscopy, cells that exfoliate from lower airways, for cytological purpose; although limited to pathological processes that involve the lumen, this sample frequently provide diagnostic information in many patients. Aim of this paper is to describe cytological features of lower airways, in normal and pathological conditions.

BIBLIOGRAFIA

- McCullough S, Brinson J. Collection and interpretation of respiratory cytology. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* Nov; 14(4): 220-226, 1999.
- Creevy KE. Airway evaluation and flexible endoscopic procedures in dogs and cats: laryngoscopy, transtracheal wash, tracheobronchoscopy, and bronchoalveolar lavage. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* Sep; 39(5): 869-880, 2009.
- De Lorenzi D. Citologia - Tecniche di prelievo e allestimento dei campioni. In: De Lorenzi D. *Malattie dell'apparato respiratorio nel cane e nel gatto*. Milano: Elsevier, 2012, pp 136-143.
- Hawkins EC, De Nicola DB, Kuehn NF. Bronchoalveolar lavage in the evaluation of pulmonary disease in the dog and cat. State of the art. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 4: 267-274, 1990.
- English K, Cowell RL, Tyler RD et al. Transtracheal and bronchoalveolar washes. In Valenciano AC, Cowell RL. *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. IVth edition, St. Louis, MO: Elsevier, 2014, pp 266-290.
- Burkhard MJ. Respiratory tract. In Raskin RE, Meyer DJ, *Canine and feline cytology - a color atlas and interpretation guide*. IIIth edition, St. Louis, MO: Elsevier, 2016, pp 138-190.
- Rebar AH, DeNicola DB, Muggenburg BA. Bronchopulmonary lavage cytology in the dog: normal findings. *Veterinary Pathology* May; 17(3): 294-304, 1980.
- Woods KS, Defarges AM, Abrams-Ogg AC, et al. Comparison of manual and suction pump aspiration techniques for performing bronchoalveolar lavage in 18 dogs with respiratory tract disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* Sep-Oct; 28(5): 1398-1404, 2014.
- Dehard S, Bernaerts F, Peeters D, et al. Comparison of bronchoalveolar lavage cytospins and smears in dogs and cats. *Journal of American Animal Hospital Association* Nov-Dec; 44(6): 285-294, 2008.
- Mercier E, Bolognin M, Hoffmann AC, et al. Influence of age on bronchoscopic findings in healthy beagle dogs. *Veterinary Journal* Feb; 187(2): 225-228, 2011.
- De Lorenzi D, Masserdotti C, Bertinello D et al. Differential cell counts in canine cytocentrifuged bronchoalveolar lavage fluid: a study on reliable enumeration of each cell type. *Veterinary Clinical Pathology* Dec; 38(4): 532-536, 2009.
- Nyby MD, Gregory DA, Kuhn DA, et al. Incidence of Simonsiella in the oral cavity of dogs. *Journal of Clinical Microbiology*. Jul; 6(1): 87-88, 1977.
- Creighton S, Wilkins R. Transtracheal aspiration biopsy: technique and cytologic evaluation. *Journal of American Animal Hospital Association* 10: 219-226, 1974.
- Masserdotti C. Citologia - Citologia patologica. In De Lorenzi D. *Malattie dell'apparato respiratorio nel cane e nel gatto*. Milano, Elsevier, 2012, pp 150-153.
- Henderson RF. Use of bronchoalveolar lavage to detect lung damage. *Environmental Health Perspectives*. Jun; 56: 115-129, 1984.
- Baudendistel L, Vogler G, Frank P et al. Bronchoalveolar eosinophilia in random-source versus purpose-bred dogs. *Laboratory Animal Science* 42: 491-496, 1992.
- Lecuyer M, Dube PG, DiFrancia R et al. Bronchoalveolar lavage in normal cats. *Canadian Veterinary Journal* 36: 771-773, 1995.
- Johnson LR, Vernau W. Bronchoscopic findings in 48 cats with spontaneous lower respiratory tract disease (2002-2009). *J Vet Inter Med* 25: 236-243, 2011.
- De Lorenzi D. Polmonite lipidica. In De Lorenzi D. *Malattie dell'apparato respiratorio nel cane e nel gatto*. Milano: Elsevier, 2012, pp 313-314.
- Norris CR. Lipid Pneumonia. In King LG. *Textbook of respiratory diseases in dogs and cats*. St.Louis: Saunders, 2004, pp 456-460.
- DeHeer HL, McManus P. Frequency and severity of tracheal wash hemosiderosis and association with underlying disease in 96 cats: 2002-2003. *Veterinary Clinical Pathology* 34: 17-22, 2005.
- Hooi KS, Defarges AM, Jelovcic SV et al. Bronchoalveolar lavage hemosiderosis in dogs and cats with respiratory disease. *Veterinary Clinical Pathology* Mar; 48(1): 42-49, 2019.
- Hirshman C, Austin D, Klein W et al. Increased metachromatic cells and lymphocytes in bronchoalveolar lavage fluid of dogs with airway hyperreactivity. *American Review of Respiratory Disease* 133: 482-487, 1986.
- Johnson LR, Vernau W. Bronchoalveolar lavage fluid lymphocytosis in 104 dogs (2006-2016). *Journal of Veterinary Internal Medicine* May; 33(3): 1315-1321, 2019.
- Kuhn C. Fine structure of bronchiolo-alveolar cell carcinoma. *Cancer* Oct; 30(4): 1107-1118, 1972.
- Heikkilä HP, Lappalainen AK, Day MJ, et al. Clinical, bronchoscopic, histopathologic, diagnostic imaging, and arterial oxygenation findings in West Highland White Terriers with idiopathic pulmonary fibrosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* May-Jun; 25(3): 433-439, 2011.
- Wilson DW. Tumors of the respiratory tract. In Meuten DJ. *Tumors in domestic animals*, Vth Ed., 2017, pp. 483-485.
- Johnston W. Cytologic diagnosis of lung cancer: principles and problems. *Pathology - Research and Practice* 181: 1-36, 1986.
- Thornton DJ, Sheehan JK. From mucins to mucus: towards a more coherent understanding of this essential barrier. *Proceedings of American Thoracic Society* 1: 54-61, 2004.
- Cruz MJ, Curull V, Pijuan L, et al. Utility of Bronchoalveolar Lavage for the Diagnosis of Asbestos-Related Diseases. *Archivos de Bronconeumologia* Jun; 53(6): 318-323, 2017.
- Peeters DE, McKiernan BC, Weisiger RM, et al. Quantitative bacterial cultures and cytological examination of bronchoalveolar lavage specimens in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* Sep-Oct; 14(5): 534-41, 2000.
- Johnson LR, Queen EV, Vernau W, et al. Microbiologic and cytologic assessment of bronchoalveolar lavage fluid from dogs with lower respiratory tract infection: 105 cases (2001-2011). *Journal of Veterinary Internal Medicine* Mar-Apr; 27(2): 259-267, 2013.
- Hawkins EC, Davidson MG, Meuten DJ, et al. Cytologic identification of *Toxoplasma gondii* in bronchoalveolar lavage fluid of experimentally infected cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* Mar 1; 210(5): 648-650, 1997.
- Goncalves R, Silva SO, de Almeida GG, et al. Detection of *Leishmania infantum* DNA in the non-parasitized lung of dogs with visceral leishmaniasis. *BMC Veterinary Research* Dec 17; 14(1): 403, 2018.
- Goncalves R, Tafuri WL, Melo MN, et al. Chronic interstitial pneumonitis in dogs naturally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*: a histopathological and morphometric study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* May-Jun; 45(3): 153-158, 2003.
- Hawkins EC, DeNicola DB. Cytologic analysis of tracheal wash specimens and bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of mycotic infections in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* Jul 1; 197(1): 79-83, 1990.
- Weissenbacher-Lang C, Fuchs-Baumgartinger A, Guja-De-Arespacocha A, et al. Pneumocystosis in dogs: meta-analysis of 43 published cases including clinical signs, diagnostic procedures, and treatment. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* Jan; 30(1): 26-35, 2018.
- Leissinger M, Pipe-Martin H, Acierno M, et al. What is your diagnosis? Tracheobronchial lavage from a dog. *Veterinary Clinical Pathology* Sep; 45(3): 511-512, 2016.
- Sherding RG. Parasites of lung. In King LG. *Textbook of respiratory diseases in dogs and cats*. St.Louis: Saunders, 2004, pp 548-559.
- Barçante JM, Barçante TA, Ribeiro VM, et al. Cytological and parasitological analysis of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs. *Veterinary Parasitology* Nov 25; 158(1-2): 93-102, 2008.
- Lacorcia L, Gasser RB, Anderson GA et al. Comparison of bronchoalveolar lavage fluid examination and other diagnostic techniques with the Baermann technique for detection of naturally occurring *Aelurostrongylus abstrusus* infection in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* Jul 1; 235(1): 43-9, 2008.
- Canon AM, Billen F, Losson B, et al. Angiostrongylosis in dogs with negative fecal and in-clinic rapid serological tests: 7 Cases (2013-2017). *Journal of Veterinary Internal Medicine* May; 32(3): 951-955, 2018.
- Norris CR, Griffey SM, Samii VF et al. Comparison of results of thoracic radiography, cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and histologic evaluation of lung specimens in dogs with respiratory tract

- disease: 16 cases (1996-2000). Journal of the American Veterinary Medical Association 1; 218(9): 1456-61, 2001.
44. Burton AG. Respiratory - Bronchoalveolar Lavage (BAL)/Transtracheal Wash (TTW). In Clinical Atlas of Small Animal Cytology. Hoboken, NJ, Wiley Blackwell, 2018, p. 270.
 45. Dungworth DL. The Respiratory System - Neoplastic diseases of the lung. In Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N Pathology of Domestic Animals. IVth Ed. San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto, Academic Press Inc., Vol II, 1993, pp 688-696.
 46. Pavelski M, Correa Leite N, Pedri E, et al. Single-aliquot, non-bronchoscopic bronchoalveolar lavage in the diagnosis of metastatic mammary tumours in dogs. Journal of Small Animal Practice Mar; 58(3): 168-173, 2017.
 47. Wilson DW. Tumors of the respiratory tract. In Meuten DJ. Tumors in domestic animals, Vth Ed., 2017, pp. 480-498.
 48. EC Hawkins, DB DeNicola, ML Plier. Cytological analysis of bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of spontaneous respiratory tract disease in dogs: a retrospective study. Journal of Veterinary Internal Medicine Nov-Dec; 9(6): 386-392, 1995.
 49. EC Hawkins, DB DeNicola, NF Kuehn. Bronchoalveolar lavage in the evaluation of pulmonary disease in the dog and cat. State of the art. Journal of Veterinary Internal Medicine Sep-Oct; 4(5): 267-74, 1990.
 50. Norris CR, Griffey SM, Samii VF et al. Thoracic radiography, bronchoalveolar lavage cytopathology, and pulmonary parenchymal histopathology: a comparison of diagnostic results in 11 cats. Journal of American Veterinary Medical Associations 38(4): 337-45, 2002.
 51. Masserdotti C, Bonfanti U, De Lorenzi D, et al. Exfoliative and agoaspirative cytological features of a pulmonary adenosquamous carcinoma in a dog. Proceedings 7th ESVCP/ECVCP, Utrecht, The Netherlands, 2005, p.108.
 52. Hawkins EC, Morrison WB, DeNicola DB, et al. Cytologic analysis of bronchoalveolar lavage fluid from 47 dogs with multicentric malignant lymphoma. Journal of the American Veterinary Medical Association Nov 15; 203(10): 1418-25, 1993.

COMPRAVENDITA DI ATTREZZATURE PROFESSIONALI VETERINARIE

VET-EXCHANGE è il servizio telematico, libero e gratuito riservato ai soli medici veterinari. Questo servizio ha l'unico scopo di consentire un più facile contatto tra soggetti interessati alla compravendita di attrezzature professionali veterinarie. **Non è consentito l'accesso alle aziende del settore.**

Il portale registra più di 20.000 visite mensili, con una media di 200 annunci al mese.

Per inserire la propria offerta o richiesta è necessaria la registrazione al servizio tramite un modulo on-line. Al ter-

mine della registrazione il sistema fornirà all'utente un codice che, insieme alla password, consentirà di accedere all'area riservata per modificare/integrare/cancellare la propria scheda prodotti 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.vetexchange.it/>



VET-EXCHANGE

IL MERCATO ITALIANO DELLE ATTREZZATURE
PROFESSIONALI VETERINARIE
Servizio on-line dell'A.N.M.V.I.