

# DIAGNOSI CITOLOGICA COMPARATA NEGLI UCCELLI E NEI MAMMIFERI

## Parte I\*

**TERRY W. CAMPBELL**, DVM, PhD  
*Sea World of Florida, Inc. - Orlando, Florida*

La citologia è un prezioso strumento di diagnosi ambulatoriale utilizzato spesso dai veterinari che si occupano della cura dei mammiferi domestici. Questa tecnica può anche essere un supporto diagnostico nella valutazione delle patologie aviari. Il presente articolo si propone di passare in rassegna i principi base della citologia diagnostica veterinaria e di dimostrare le analogie nella interpretazione dei campioni citologici di mammiferi ed uccelli.

Sono disponibili vari metodi di raccolta di campioni per l'analisi citologica. La scelta della tecnica di prelievo dipende dalla localizzazione del tessuto o del liquido da esaminare, dalla specie animale e dalle preferenze del citologo. Le tecniche base di raccolta del campione (ad esempio, la biopsia per aspirazione con ago sottile, gli strisci per contatto (impronta) ed i campionamenti mediante lavaggio) e le procedure di preparazione dei campioni stessi impiegate nella citodiagnosi dei mammiferi possono essere applicate anche agli uccelli. Numerose pubblicazioni descrivono queste tecniche di campionamento.<sup>1-3</sup>

Nella diagnostica citologica, si possono utilizzare varie colorazioni. Alcuni citologi veterinari preferiscono utilizzare per le procedure di routine quelle di Romanovsky (ad esempio, le colorazioni di Wright e la tecnica rapida di Romanovsky) perché consentono di ottenere una colorazione adeguata sia per la valutazione ematologica che per citologica. Le colorazioni di Romanovsky sono semplici, rapide ed è possibile attuarle facilmente nel laboratorio clinico.

Prima di poter effettuare una corretta interpretazione, il citologo in primo luogo deve avere familiarità con l'aspetto normale dei tessuti e dei liquidi che si accinge ad esaminare. Sapendo quali cellule sono presenti nell'animale sano, è possibile dedurre quali, di regola, non lo siano. Inoltre, una solida preparazione patologica e clinica consente al veterinario di effettuare interpretazioni citodiagnostiche corrette. Un vantaggio dell'essere in grado di utilizzare la citologia come strumento diagnostico è che spesso si può ottenere rapidamente una diagnosi presuntiva (o talvolta definitiva).

Per interpretare la risposta cellulare si utilizza lo stesso approccio, indipendentemente dalla provenienza del campione. Il citologo esamina il preparato colorato e determina quale tipo di cellule predomina. Le tre diagnosi primarie ottenute dall'esame citologico sono l'infiammazione, la neoplasia e l'iperplasia cellulare (neoplasia benigna).<sup>1-3</sup>

### INFIAMMAZIONE

Si formula una diagnosi di infiammazione se predominano le cellule infiammatorie. Queste, per la maggior parte dei mammiferi, sono rappresentate da neutrofili, eosinofili, linfociti, plasmacellule, monociti e macrofagi. Gli elementi infiammatori degli uccelli comprendono gli stessi tipi di cellule, fatta eccezione per i neutrofili, sostituiti dagli eterofili.

Sebbene gli eosinofili negli uccelli siano considerati cellule infiammatorie, nelle lesioni flogistiche si riscontrano raramente. La loro presenza può essere attribuibile ad un raro coinvolgimento nei processi infiammatori o alla loro variazione di aspetto nelle lesioni di questo tipo; ciò può renderli difficili da distinguere dagli eterofili. Nei mammiferi, una risposta infiammatoria eosinofila si riscontra occasionalmente e suggerisce un'ipersensibilità alla stimolazione da parte di alcuni antigeni (ad esempio, parassiti ed allergeni).

Le lesioni flogistiche possono essere ulteriormente suddivise in infiammazione neutrofila/eterofila (acuta), a cellule miste (attiva cronica [subacuta]) e macrofagica (cronica) (Tab. 1). Nella prima predominano i neutrofili o (negli uccelli) gli eterofili (Fig. 1).

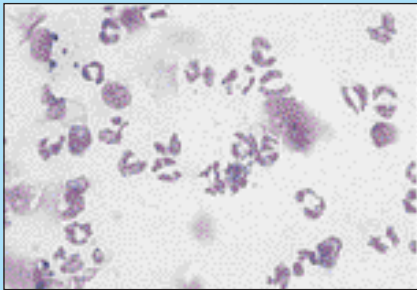
Perciò, nelle lesioni con questo tipo di infiammazione, più del 70% delle cellule infiammatorie è rappresentato da neutrofili (nei mammiferi) o da eterofili (negli uccelli). Vi si possono inoltre riscontrare leucociti mononucleari di vario tipo (ad esempio, monociti, macrofagi, linfociti o plasmacellule).

I neutrofili e gli eterofili possono apparire degenerati in relazione alla causa dell'infiammazione. Le modificazioni degenerative di queste cellule variano da lievi, indicate da

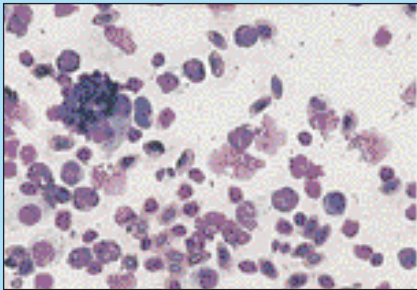
\* Da "The Compendium Collection" Vol. 12, N. 5. Con l'autorizzazione dell'Editore.

**Tabella 1**  
**Confronto fra l'infiammazione di uccelli e mammiferi**

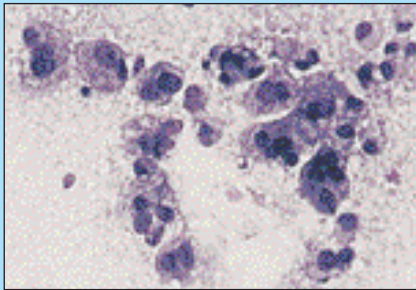
Tipologia e caratteristiche dell'infiammazione	Uccelli	Mammiferi
Cellule infiammatorie	Eterofili, eosinofili, linfociti, plasmacellule, monociti e macrofagi	Neutrofili, eosinofili, linfociti, plasmacellule, monociti e macrofagi
Infiammazione neutrofila o eterofila	Prevalentemente eterofili (più del 70% di cellule infiammatorie)	Prevalentemente neutrofili (più del 70% di cellule infiammatorie)
Infiammazione di tipo misto	Granulociti e leucociti mononucleari; più del 50% di cellule infiammatorie ed eterofili	Granulociti e leucociti mononucleari; più del 50% di cellule infiammatorie e neutrofili
Infiammazione da macrofagi	Prevalentemente leucociti mononucleari (più del 50% di cellule infiammatorie)	Prevalentemente leucociti mononucleari (più del 50% di cellule infiammatorie)



**FIGURA 1** – Infiammazione neutrofila. Nell'aspirato transtracheale si evidenzia una predominanza di neutrofili degenerati provenienti da un cavallo con tracheobronchite (Diff-Quick®).



**FIGURA 2** – Infiammazione a cellule miste. Nel materiale aspirato da un seno di un Amazzone a guance verdi (*Amazona viridigenalis*) con sinusite macrofagica, si evidenzia un predominio di eterofili non degenerati con occasionali macrofagi, linfociti e plasmacellule (Diff-Quick®).



**FIGURA 3** – Infiammazione macrofagica. In un preparato per impronta ottenuto da una biopsia prelevata da Ara ad ali verdi (*Ara chloroptera*), il predominio di macrofagi e cellule giganti multinucleate attesta una xantomatosi cutanea (Diff-Quick®).

rigonfiamento nucleare e ialinizzazione della cromatina nucleare (che appare come un nucleo di colore rosa omogeneo), a gravi, esitanti nella rottura del nucleo. Una degenerazione lentamente progressiva di neutrofili ed eterofili in un ambiente non tossico determina picnosi del nucleo ed ipersegmentazione. Queste variazioni rappresentano il naturale invecchiamento delle cellule coinvolte.

Nell'area dell'infiammazione a cellule miste, più del 50% delle cellule infiammatorie è dato da neutrofili nei mammiferi e da eterofili negli uccelli (Fig. 2). Il numero dei leucociti mononucleari (monociti, macrofagi, linfociti e plasmacellule) risulta comunque aumentato. La presenza di linfociti e plasmacellule reattivi indica una stimolazione antigenica localizzata.

In questo tipo di infiammazione i neutrofili o gli eterofili sono tipicamente non degenerativi, suggerendo una bassa tossicità dell'agente eziologico. Il riscontro di un processo a cellule miste nei mammiferi e negli uccelli solitamente indica una risposta infiammatoria non grave, come nella flogosi da neutrofili/eterofili.

Nell'infiammazione da macrofagi in mammiferi e uccelli si riscontra una predominanza di leucociti mononucleari (Fig. 3). Quindi, più del 50% delle cellule infiammatorie è dato da monociti, macrofagi, linfociti e plasmacellule. L'infiammazione da macrofagi è spesso causata da agenti eziologici

non gravi che tendono ad essere fattori irritanti persistenti, come corpi estranei ed infezioni provocate da batteri quali *Mycobacterium* spp., *Chlamydia* e miceti.

I macrofagi spesso confluiscono per formare cellule giganti multinucleate, in particolar modo se è presente materiale estraneo di grosse dimensioni (ad esempio, miceti o corpi estranei). I macrofagi e le cellule giganti non indicano necessariamente cronicità e possono essere occasionalmente presenti in lesioni con infiammazione da neutrofili/eterofili.

**IPERPLASIA TISSUTALE O NEOPLASIA BENIGNA**

Una volta stabilito che il quadro cellulare non corrisponde né ad una risposta infiammatoria tipica né ad una situazione normale, occorre decidere fra una diagnosi di iperplasia tissutale e una di neoplasia maligna. L'iperplasia è un processo proliferativo del tessuto che usualmente si verifica in risposta ad insulto della cellula o stimolazione cronica (ad esempio, tessuto ghiandolare).

La morfologia della cellula dell'iperplasia tissutale è solitamente indistinguibile da quella di una neoplasia benigna. Le cellule dei tessuti iperplastici possono apparire immature, presentare basofilia citoplasmatica ed avere

nuclei vescicolari pallidi; inoltre, si può riscontrare un elevato indice mitotico con figure mitotiche apparentemente normali. Le cellule possiedono un rapporto nucleo:citoplasma uniforme. L'iperplasia fibrosa o delle cellule epiteliali è di comune riscontro nelle lesioni con infiammazione da macrofagi.

A differenza della neoplasia maligna, l'iperplasia cellulare è uniforme sia nei mammiferi che negli uccelli. Le cellule maligne tendono ad essere altamente polimorfiche.

## NEOPLASIA MALIGNA

I criteri citomorfologici per le neoplasie maligne comprendono le informazioni concernenti le caratteristiche generali delle cellule prelevate dalla lesione. Con questo termine si indicano la cellularità e l'aspetto globale della popolazione citologica dello striscio. Le neoplasie maligne sono spesso caratterizzate da campioni ad elevata densità cellulare perché le cellule hanno perso la loro normale capacità di interagire fra loro e l'alterazione tissutale comporta una maggior esfoliazione cellulare.

Dalle neoplasie maligne di mammiferi ed uccelli si ottengono spesso campioni cellulari con una popolazione polimorfa di elementi che sembrano avere un'origine comune; tuttavia, anche il riscontro di una popolazione uniforme di cellule estranee alla sede da cui sono state prelevate può suggerire la presenza di una neoplasia maligna (lesione metastatica). Un altro indizio della presenza di una neoplasia può essere il riscontro di emorragia in un'area senza un'anamnesi di trauma. Ciò suggerisce una possibile emorragia causata da una massa neoplastica erosiva. Questi sanguinamenti si manifestano comunemente sotto forma di emoperitoneo spontaneo derivante da una neoplasia addominale. Quindi, l'emorragia cronica nella cavità addominale di un uccello o di un mammifero con riscontro radiografico di una massa addominale suggerisce la presenza di un tumore, anche senza prove dirette (ad esempio, cellule neoplastiche nei liquidi addominali) di neoplasia maligna.

Le caratteristiche del nucleo rappresentano il criterio citologico di malignità più significativo. Le cellule che derivano da tumori maligni di uccelli e mammiferi tendono a presentare modificazioni moderate o marcate delle dimensioni del nucleo (anisocitosi anucleare) e dei rapporti nucleo:citoplasmatici. Altre caratteristiche nucleari di malignità sono la variabilità della forma del nucleo (polimorfismo nucleare), le anomalie dei nucleoli (multipli, grandi o irregolari), le alterazioni della cromatina (ad esempio, grossolana, ipocromatica e raggruppata irregolarmente), la multinuclearità e l'elevato indice mitotico.

La multinuclearità e l'elevato indice mitotico possono anche indicare iperplasia tissutale o neoplasia benigna in mammiferi ed uccelli; in ogni caso, figure mitotiche anormali (ad esempio, multipolarità) e cellule multinucleate con nucleo polimorfico o irregolare suggeriscono una condizione di malignità. Anche lo schiacciamento del nucleo derivante dalla compressione ad opera di cellule adiacenti o di un secondo nucleo all'interno della stessa cellula è indice di malignità. Alcuni elementi neoplastici presentano piccoli nuclei satelliti adiacenti ad un nucleo di grandi dimensioni o nel citoplasma.

Le caratteristiche citoplasmatiche delle cellule maligne sono meno utili di quelle del nucleo. Per esempio, la basofilia citoplasmatica (che indica un incremento dell'RNA citoplasmatico attribuibile ad un aumento dell'attività metabolica) è un segno di immaturità e si può riscontrare nelle cellule maligne o in quelle derivanti da aree di tessuto iperplasico o da una neoplasia benigna. Altri riscontri citoplasmatici, indicativi di malignità, sono dati da variazioni nella qualità della colorazione, vacuolizzazione anomala di inclusioni e margine del citoplasma irregolare.

In conclusione, le peculiarità strutturali delle cellule maligne possono aiutare nella classificazione delle neoplasie degli uccelli e dei mammiferi. I tumori maligni possono essere classificati citologicamente come epiteliali (carcinomi), mesenchimali (sarcomi) o a cellule isolate (cellule rotonde). I carcinomi degli animali presentano cellule epiteliali di aspetto anomalo (Fig. 4). Questi elementi tendono ad esfoliarsi bene e spesso si presentano sotto forma di aggregati cellulari (i cosiddetti "grappoli" cellulari, che vanno differenziati dagli ammassi che si osservano nei campioni ad elevata cellularità). Le cellule dei carcinomi possono essere da tonde a poliedriche con margini citoplasmatici netti; tuttavia, si può avere anche la formazione di cellule giganti multinucleate, quando alcuni elementi si fondono con quelli vicini perdendo la distinzione dei margini citoplasmatici.

I sarcomi tendono a fornire campioni scarsamente cellulari perché i singoli elementi sono inclusi nella matrice extracellulare. Quindi, è spesso necessaria l'esfoliazione traumatica tramite raschiato tissutale per migliorare la raccolta cellulare.

In uccelli e mammiferi, le cellule provenienti da sarcomi sono spesso fusiformi con margini citoplasmatici scarsamente definiti. A differenza delle cellule epiteliali, queste tendono ad esfoliare sotto forma di cellule singole o in piccoli grappoli. L'aspetto fusiforme può variare a seconda del tipo di sarcoma. Per esempio, i fibrosarcomi producono cellule allungate o fusiformi più sottili di quelle, più larghe, dei sarcomi osteogenetici (Fig. 5). Sullo sfondo extracellulare si può riscontrare una matrice extracellulare (ad esempio, osteoide o collagene) prodotta da alcuni sarcomi.

I tumori a cellule isolate producono un campione ad elevata cellularità, composto da elementi tondeggianti. Questi si esfoliano individualmente perché derivano da cellule che non presentano una normale interazione tra loro. Esempi di neoplasie a cellule isolate dei mammiferi sono i linfosarcomi, i mastocitomi, gli istiocitomi ed i tumori venerei trasmissibili del cane (Fig. 6). Una neoplasia a cellule singole di frequente riscontro negli uccelli è il tumore linfoide.

## VERSAMENTI

L'anomalo accumulo di fluidi nelle cavità corporee dei mammiferi può risultare da un incremento della permeabilità vascolare, un calo della pressione osmotica del plasma (ad esempio, ipoalbuminemia), un aumento della pressione idrostatica intravascolare od un'interruzione del

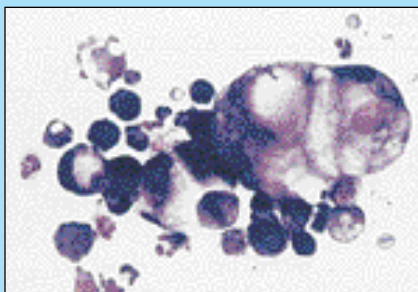


FIGURA 4 – Carcinoma. Cellule epiteliali che rivelano la presenza di una neoplasia in una biopsia per aspirazione di un adenocarcinoma mammario in una bovina (Diff-Quick®).

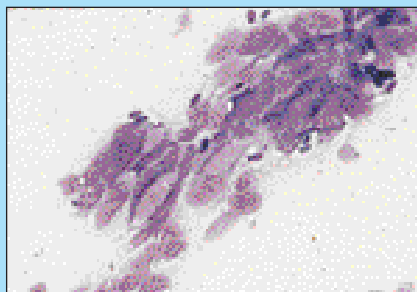


FIGURA 5 – Sarcoma. Un grappolo di cellule fusiformi polimorfe in uno striscio ottenuto per contatto da un fibrosarcoma di un parrocchetto (colorazione di Wright).

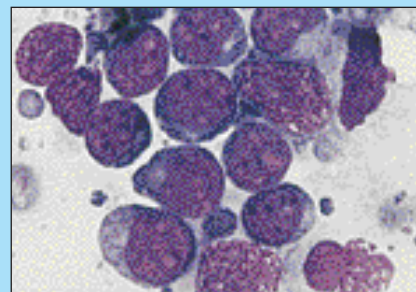


FIGURA 6 – Neoplasia a cellule rotonde. Grandi linfociti immaturi in un aspirato linfonodale ottenuto da un cane con neoplasia linfoide (colorazione di Wright).

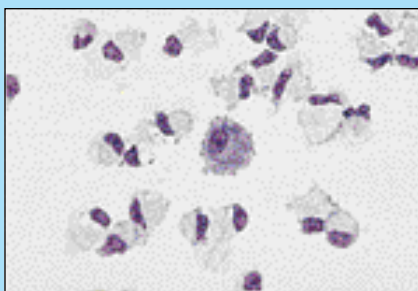


FIGURA 7 – Trasudato modificato. Macrofagi e cellule mesoteliali (al centro) nel liquido addominale di una maina (Diff-Quick®).

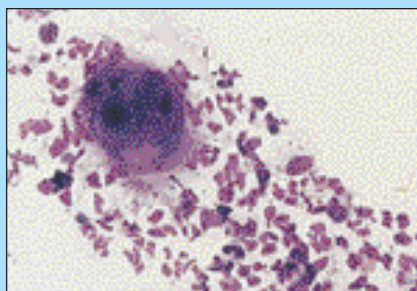


FIGURA 8 – Versamento essudativo o maligno. Un ingente numero di neutrofili degenerati ed un'anomala cellula epiteliale squamosa nel liquido peritoneale di un cavallo con carcinoma squamocellulare gastrico (Diff-Quick®).

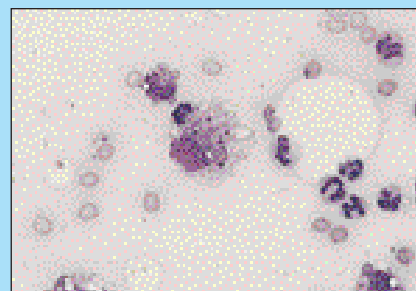


FIGURA 9 – Versamento emorragico. Eritrociti, neutrofili non degenerati ed un macrofago che mostra un'eritrocitofagia nel liquido toracico di un cane con emotorace (Diff-Quick®).

normale drenaggio del fluido attribuibile all'ostruzione del flusso linfatico. Il medesimo meccanismo può anche essere coinvolto nell'accumulo di liquidi organici negli uccelli, che però è forzatamente confinato nella cavità addominale. Due cause comuni di ascite negli uccelli sono i processi infiammatori e quelli neoplastici.

I versamenti di uccelli e mammiferi possono essere classificati come trasudati, trasudati modificati, essudati, versamenti emorragici, versamenti maligni o chilosi (Tab. 2). Sebbene siano importanti nei mammiferi, questi ultimi non sono stati riscontrati negli uccelli e quindi non saranno argomento di questo articolo.

I trasudati derivano da un anormale accumulo di liquido organico normale. I trasudati di mammiferi ed uccelli sono caratterizzati da bassa cellularità (ad esempio, meno di 1000 cell/μl in cani, gatti ed uccelli o 3000 cell/μl nei cavalli), basso peso specifico (minore di 1.015) e ridotte proteine totali (minore di 2,5 g/dl). I trasudati possono risultare da incolore a color giallo pallido e di aspetto da chiaro a debolmente torbido.

I trasudati presentano leucociti e cellule mesoteliali. La maggior parte di questi elementi è mononucleata (monociti, macrofagi e cellule mesoteliali). Si riscontrano occasionali neutrofili non degenerati (nei mammiferi) o eterofili (negli uccelli).

Le cellule mesoteliali normali, che sono grandi cellule squamose che rivestono le superfici sierose degli organi, diventano reattive quando le membrane sierose sono irri-

tate (ad esempio, nei versamenti di vecchia data). Le cellule mesoteliali reattive sono rotonde o ovali, si esfoliano singolarmente o a piccoli grappoli, sono dentellate o con margini citoplasmatici eosinofili simili a villi e possono presentare multinucleazione, attività mitotica o vacuolizzazione citoplasmatica.

I trasudati modificati sono simili a trasudati normali, ma con valori più elevati di cellularità (1000-5000 cell/μl in cani, gatti ed uccelli) e contenuto proteico (2,5-3,0 g/dl). Le cellule mononucleari (macrofagi, monociti e cellule mesoteliali) sono la tipologia predominante in questo tipo di versamento (Fig. 7). Occasionalmente, si possono riscontrare neutrofili non degenerati (nei mammiferi) o eterofili (negli uccelli).

I versamenti essudativi sono la conseguenza di processi infiammatori all'interno delle cavità corporee. Sono caratterizzati da elevata cellularità (più di 5000 cell/μl in cani, gatti ed uccelli o 10.000 cell/μl nei cavalli). Variano per colore e torbidità, spesso sono viscosi, possono essere maleodoranti e, frequentemente, coagulano durante la raccolta del campione.

Le caratteristiche cellulari degli essudati sono relative a causa, risposta all'ospite e durata (Fig. 8). I versamenti infiammatori da neutrofili/eterofili mostrano una predominanza di neutrofili (mammiferi) o eterofili (uccelli). Il versamento settico può contenere batteri intracellulari e neutrofili o eterofili degenerati. I leucociti mononucleari possono predominare fra le cellule di essu-

**Tabella 2**  
**Confronto fra versamenti di uccelli e mammiferi**

Caratteristiche	Tipo di versamento			
	Trasudato	Essudato	Emorragico	Neoplastico
Aspetto	Fluidico, acquoso, limpido, inodore	Denso, torbido, può avere odore	Simile a sangue periferico	Denso e torbido o simile a sangue periferico
Colore	Da incolore a giallo pallido	Bianco, rosso o giallo	Rosso	Bianco, rosso o giallo
Peso specifico	Minore di 1.015	Maggiore di 1.020	Maggiore di 1.020	Maggiore di 1.020
Contenuto proteico	Minore di 3,0 g/dl	Maggiore di 3,0 g/dl	Maggiore di 3,0 g/dl	Maggiore di 3,0 g/dl
Coagulazione	Assente	Frequente	Occasionale	Occasionale
Cellularità	Scarsa (i leucociti sono rari)	Abbondante (numerosi leucociti)	Da moderato ad abbondante (eritrociti e macrofagi presentano eritrocitofagia)	Da moderato a marcato (leucociti, eritrociti e/o cellule maligne)

dato provocato da irritazione lieve, non settica nella cavità corporea. Negli essudati possono essere comuni le cellule mesoteliali.

Gli eritrociti sono prevalenti nei versamenti emorragici (Fig. 9). Questi ultimi, nella forma acuta, sono simili al sangue periferico, fatta eccezione per il conteggio totale ed il contenuto proteico totale, che di solito sono più ridotti. Le piastrine dei mammiferi o i trombociti degli uccelli spariscono rapidamente e possono essere del tutto assenti anche nei versamenti emorragici acuti. Nella forma cronica, sono caratterizzati da macrofagi con un grado variabile di eritrocitofagia.

I versamenti maligni si presentano come trasudati modificati, essudati o versamenti emorragici. Vengono identificati in base al riscontro delle cellule neoplastiche, che però non sono sempre presenti perché il tumore può non avere iniziato a diffondere le proprie cellule o perché è caratterizzato da una scarsa esfoliazione (ad esempio, sarcomi). Se vi sono cellule neoplastiche, le loro caratteristiche possono consentire al citologo di determinare il tipo di neoplasia (ad esempio, carcinoma, sarcoma o linfosarcoma).

## CONCLUSIONI

La valutazione citologica di tessuto e liquido organico di mammiferi ed uccelli può consentire di arrivare rapidamente ad una diagnosi presunta o definitiva. Le tecniche citologiche e le interpretazioni impiegate nella medicina aviaria sono fondamentalmente le stesse utilizzate nei mammiferi domestici.

## Note sull'Autore

*La Dr.ssa Campbell è affiliata al Sea World of Florida in Orlando, Florida.*

## Bibliografia

1. Perman V, Alsaker RD, Riis RC: Cytology of the Dog and Cat. Denver, CO, American Animal Hospital Association, 1979.
2. Rebar AH: Handbook of Veterinary Cytology. St Louis, MO, Ralston Purina Co, 1978.
3. Campbell TW: Avian Hematology and Cytology. Ames, IA, Iowa State University Press, 1988.