

COME ESEGUIRE CORRETTAMENTE UN PRELIEVO DI MIDOLLO OSSEO

Walter Bertazzolo, Med. Vet. DiplECVCP

Nella prima parte abbiamo descritto le indicazioni cliniche per un esame del midollo osseo ematopoietico. Descriveremo ora quali sono le sedi più adeguate e le modalità corrette per un campionamento di tessuto midollare.

Tipi di biopsia. Si possono eseguire due tipi di biopsie midollari: citologica ed istologica. Iniziamo quindi con descriverne vantaggi e svantaggi e capire quindi quando è più indicato una o l'altra. Entrambe sono metodiche relativamente semplici e solitamente prive rischi, ma devono venir spesso eseguite in sedazione profonda o anestesia generale, sebbene in pazienti defedati o di buona indole, può essere sufficiente l'anestesia locale mediante lidocaina.

La prima tecnica bioptica (citologica) è particolarmente indicata per la valutazione della morfologia cellulare o la ricerca di parassiti, la seconda (istologica) per valutare la cellularità o alterazioni strutturali quali ipoplasia/aplasia midollare, mielonecrosi, mielofibrosi, iperostosi e metastasi occulte. Per valutare le diverse popolazioni cellulari e per fare stime quali/quantitative accurate è necessario quindi avere a disposizione buoni preparati citologici. In caso di tessuto midollare fortemente ipoplasico, aplasico, necrotico o fibrotico, è molto difficile ottenere campioni citologici adeguati ed è quindi necessario ricorrere ad una biopsia istologica. L'autore di solito preferisce tentare prima con un campionamento citologico, valutarlo subito microscopicamente e solo in caso di prelievo inadeguato, ricorrere anche alla biopsia istologica, in modo da verificare se l'inadeguatezza del campione sia da imputarsi a un problema intrinseco midollare oppure ad un errore di campionamento. Tuttavia, ogni volta che ce ne sia la possibilità e che l'animale è stato anestetizzato, ritengo opportuno ottenere entrambi i tipi di campione, in particolare se non vi è la possibilità di effettuare una diagnosi citologica estemporanea. Ciò evita l'inconveniente di dover ri-anestetizzare il paziente e ri-campionare il midollo a distanza di giorni, dopo aver ricevuto un esito citologico non diagnostico.

Aghi utilizzabili. Le biopsie midollari si possono eseguire con aghi di diametro variabile, con o senza mandrino. Gli aghi mandrinati sono da preferirsi in quanto non si occludono durante l'inserimento e l'attraversamento del tessuto osseo, come capita invece spesso utilizzando aghi normali. I punti di reperi preferenziali sono l'epifisi prossimale omerale e femorale, la cresta iliaca, la giunzione costocondrale (solo per prelievi aspirativi e con aghi di piccolo calibro, >18G) e lo sterno. Prima di procedere alla biopsia è sempre necessario preparare adeguatamente il campo operatorio (tricotomia e asepsi). Dopo la preparazione del campo è consigliabile eseguire un'incisione cutanea per facilitare l'introduzione dell'ago, qualora questo sia di dimensioni ragguardevoli (es. Ago per biopsia istologica).



Esempio di aghi per biopsia midollare.



Esempio di utilizzo di ago rosa non mandrinato per il prelievo di midollo da omero prossimale in un gatto.

Anestesia. La scelta del tipo di anestesia dipende ovviamente dallo stato del paziente, dalla sua indole e dal tipo di procedura più o meno invasiva. Ogni caso va pertanto valutato di concerto con l'anestesista.

Modalità di prelievo. I prelievi citologici (agoaspirativi) vengono effettuati aspirando sangue midollare contenente le particelle di midollo osseo (spicole). L'ago va inserito con forza e con lievi movimenti rotatori nella sede prescelta, che deve essere adeguatamente localizzata (es. Giunzione costo-condrale delle coste, vedi video allegato al Blog). Le sedi migliori per un prelievo con ago sottile sono la giunzione costo-condrale, le sternebre e la faccia laterale dell'ala dell'ileo, che non hanno una corticale ossea spessa e possono quindi essere perforate con un normale ago da 18-21 G). La procedura di aspirazione più corretta prevede l'uso di siringe di grande volume (>5-10 mL), con le quali vengono eseguite aspirazioni vigorose e ripetute. Ciò permette il distacco più facile delle spicole midollari ed una minore contaminazione ematica. Il midollo aspirato deve essere strisciato immediatamente per evitarne la coagulazione. Alternativamente può essere mescolato

ad una piccola quantità di EDTA (previamente posto nella siringa o nell'ago utilizzati per il prelievo) ed essere processato entro poche ore. Non è consigliabile utilizzare altri anticoagulanti (es. eparina) in quanto i campioni così ottenuti non presentano una morfologia cellulare ben conservata. Appena preparati, gli strisci devono essere fissati all'aria immediatamente (possibilmente con asciugacapelli o in stufa) e colorati con colorazioni del tipo Romanowsky (preferibilmente May-Grünwald-Giemsa). L'adeguata preparazione dei campioni citologici è un'altra fase molto critica ai fini della corretta interpretazione poichè solo se adeguatamente strisciati, fissati e colorati possono essere adeguatamente valutati microscopicamente. Ci occuperemo di questa fase in maniera approfondita in una terza parte.

I prelievi needle-core vengono ottenuti con appositi aghi mandrinati per biopsie midollari od ossee. La tecnica è solitamente dolorosa e richiede l'utilizzo di protocolli anestesiolgici locali o generali. Le sedi preferenziali per l'esecuzione di una biopsia istologica midollare sono le epifisi prossimali di omero e femore e la cresta iliaca. Le prime due sedi sono di più semplice accesso anche per operatori non avvezzi alle tecniche ortopediche. Recentemente è stata descritta una tecnica di prelievo a partire dalla prima sternebra, isolabile e campionabile cranialmente anche in cani molto sovrappeso. Una volta che l'ago mandrinato è stato introdotto nella corticale ossea, il mandrino viene tolto e la cannula viene sospinta in profondità nell'osso per 1-2 cm. Prima di ritrarla è consigliabile eseguire alcuni movimenti di lateralità per facilitare il distacco della "carota" midollare dalla base a cui è attaccata. La "carota" di tessuto prelevata viene fatta fuoriuscire dalla parte posteriore della cannula (mediante apposito specillo); successivamente deve essere fissata in formalina e processata mediante le comuni tecniche istopatologiche. Prima di essere posta in formalina, il frammento bioptico può essere rotolato delicatamente su vetrino per ottenere preparati per citologia, sebbene io sconsigli questa procedura che potrebbe danneggiare il frammento bioptico e condurre comunque a campioni citologici con cellule danneggiate.

Vi rimandiamo ai video allegati al Blog per una esemplificazione pratica della procedura di prelievo.

Problemi principali del prelievo. Durante il campionamento sorgono spesso problemi tecnici che precludono la raccolta di materiale di qualità, vediamo alcuni esempi tipici:

- 1) L'ago non raggiunge la cavità midollare: questa è un'evenienza comune in caso di operatori poco esperti: solo una corretta manualità ed esercizio (es. prove su cadaveri) possono migliorare la tecnica.
- 2) L'ago si occlude durante l'entrata nell'osso: questo è un problema comune nei campionamenti con ago-sottile, soprattutto se effettuati dalla cartilagine costo-condrale. E' necessario ripetere la procedura con nuovo ago, fino a quando arrivano gocce di sangue midollare nel cono dell'ago.

3) Il campione prelevato risulta coagulato: problema molto frequente e dovuto a procedura troppo lenta e/o all'assenza di anticoagulante nella siringa. Il sangue midollare coagula infatti molto rapidamente (pochi secondi). Velocizzando la procedura o usando siringe precedentemente umidificate con EDTA si può ovviare al problema. Un midollo coagulato sarà pressoché inutilizzabile per una valutazione citologica, sebbene possa essere utilizzato per altre procedure (es. biologia molecolare).

4) Dall'aspirazione esce solo sangue: problema comune soprattutto nei pazienti molto anemici. Purtroppo in questi casi non è possibile discernere un'effettiva ipocellularità midollare (es. per aplasia, mielofibrosi, ecc.) da un errore di campionamento. Pertanto se il problema persiste anche dopo cambio di sede, è consigliabile eseguire anche una biopsia istologica.

5) Durante il campionamento istologico con aghi needle-core, non rimane materiale nella cannula. Questo è un problema non facile da ovviare e che può capitare sia per motivi tecnici (procedura inadeguata) che intrinseci al midollo. Si consiglia di ripetere il campionamento in altre sedi.

Walter Bertazzolo, Med Vet, DipIECVCP

Direttore Scientifico, Laboratorio LaVallonea