



UNIUNEA EUROPEANĂ

GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
ASRPOSDRUFondul Social European
PRIORITATE 2007-2013Instrumente Structurale
2007-2013MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU

USAMV Iași

REZUMAT

Cuvinte cheie: citologie, epanșament, epanșament tumoral, cavități seroase, carnivore, rumegătoare mari, rumegătoare mici, examen citologic, examen histopatologic, imunocitochimie.

Teza de doctorat intitulată "*Citologia exfoliativă a cavităților interne seroase la animale*" a fost elaborată în cadrul Școlii Doctorale a Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad" din Iași, pe parcursul a patru ani de studii, în perioada 1 octombrie 2009 – 1 octombrie 2013 și este structurată, în conformitate cu prevederile legale actuale, în două părți principale: partea I-a intitulată "*Stadiul cunoașterii*", cuprinde 52 pagini și reprezintă 25% și partea a II-a denumită "*Cercetări personale*", este extinsă pe 154 pagini și reprezintă 75%.

În **partea I-a**, structurată în trei capitole, sunt prezentate succint informații din literatura de specialitate consultată, referitoare la subiectul tezei, informații ce au fost folosite ulterior pentru interpretarea datelor obținute în partea a doua. Această parte este ilustrată de 2 figuri selectate ca fiind sugestive pentru a detalia informațiile sintetizate.

În primul capitol – "*Morfologia cavităților seroase la animale*" este prezentată morfologia normală a cavităților seroase interne la speciile de animale studiate, expusă din punct de vedere anatomic, structural-histologic, ultrastructural-citologic cu referire direct asupra lichidelor cavitare.

Capitolul II – "*Morfopatologia cavităților seroase la animale*" tratează morfopatologia cavităților seroase, în asociere cu leziunile organelor cavitare, etiologia, patogeniza și manifestarea lor macro - și microscopică.

Capitolul III – "*Metodologia examenului citologic a lichidelor cavitare interne*" prezintă date specifice cu privire la toate etapele necesare, obligatoriu de a fi parcurse în practica medical-veterinară când se solicită executarea examenului citologic, într-o gamă largă de afecțiuni la animale.



Partea a II-a este structurată în 5 capitole (cap. IV-VIII) și cuprinde: cap. IV – ***“Scop și obiective”***, cap. V – ***“Cercetări privind citomorfopatologia cavităților interne seroase la animale”***, cap. VI – ***“Imunocitochimie aplicat în diagnosticul diferențiar între carcinom, mezoteliom și timom”***, cap. VII – ***“Corelații între rezultatele citologice și histopatologice la speciile de animale examinate”***, cap. VIII – ***“Tabele recapitulative”, Concluziile finale*** sintetizând cercetările efectuate.

Lucrarea a fost efectuată pe cazuistica provenită din gospodăriile particulare și din sistemul intensiv de creștere de pe raza județului Iași, din clinicile Facultății de Medicină Veterinară din Iași, din cadrul Laboratorului de Necropsie și Morfopatologie a Facultății de Medicină Veterinară din Iași și din cadrul Laboratorului Anatomie Patologică și Citologie al Școlii Naționale Veterinare Alfort, Franța, *Ecole Nationale Veterinaire d'Alfort (ENVA)*.

În capitolul IV – ***“Scop și obiective”*** este motivată alegerea temei. Principalul scop al cercetării se concentrează pe analizarea și încadrarea citomorfopatologică a epanșamentele prelevate intravitam de la animale, asociate leziunilor cavităților seroase.

Astfel, obiectivele principale și activitățile corespunzătoare ale tezei au fost prestabilite în comun acord cu conducătorul științific al tezei de doctorat și au fost reprezentate de:

✓ Evaluarea aspectelor biochimice și citologice ale epanșamentelor cavitare, respectiv pleurale, pericardice și abdominale, colecții care prin mecanismul de formare și poziția topografică, se pretează la tehnica punșionării cavitare.

✓ Evaluarea sensibilității și specificității examenului citologic al epanșamentelor: în acest scop s-a realizat din epanșamente prelevate intravitam, compararea rezultatelor obținute în urma interpretării citologice cu rezultatele examenului histopatologic, realizat ulterior din fragmente de organe cu leziuni asociate epanșamentelor provenite de la animalele moarte sau eutanasiate.

Pe de o parte, examenul histopatologic se caracterizează prin acuratețe crescută datorită conservării arhitecturii leziunilor, precum și datorită posibilității observării complexității procesului patologic și a raportului leziunilor în raport cu țesuturile limitrofe. Pe de cealaltă parte, examenul citologic, obținut prin prelevarea de celule aduce informații privind modificări fine de morfologie celulară, apariția de celule anormale pentru epanșamentul studiat și evaluarea mixajului și predominanței celulare caracteristică anumitor procese patologice.

✓ Încercarea de stabilire a unui diagnostic etiologic, rapid și corect prin prelucrarea corespunzătoare a prelevatelor în scopul punerii în evidență a eventualilor agenți etiologici animați (bacterii, paraziți).



✓ Introducerea în practica de diagnostic a examenului citologic prin tehnica punșionării cavităților seroase. Acesta permite stabilirea naturii epanșamentului, orientarea către o posibilă diagnosticare a procesului patologic, oferind clinicianului posibilitatea luării deciziilor terapeutice corespunzătoare, într-un interval de timp scurt și cu complicații minime pentru pacient.

✓ Stabilirea corelațiilor existente între aspectele citologice-imunocitochimice-histopatologice la animale.

✓ Corelarea rezultatelor obținute cu datele citate din literatura de specialitate, cu scopul cunoașterii mai aprofundate a citomorfologiei normale și patologice la nivelul cavităților seroase la animale.

Capitolele din partea II-a încep cu descrierea materialului de lucru și a metodelor utilizate pentru realizarea cercetărilor, și toate fotografiile părții a doua sunt originale, realizate în cadrul laboratoarelor unde s-au efectuat cercetările. Datele prezentate în partea de *Cercetări personale* sunt susținute de 31 tabele și 200 figuri inserate. Lista bibliografică însumează 222 titluri din literatura autohtonă și internațională. În conținutul lucrării se regăsesc date proprii publicate în lucrările științifice susținute în cadrul Simpozioanelor cu participare internațională organizate de Facultatea de Medicină Veterinară Iași, Cluj, Timișoara și București.

S-au efectuat examene citologice, bacteriologice, imunocitochimice, necropsice și histopatologice și s-au prelevat probe de lichid cavitărilor, probe din țesuturi și organe pentru realizarea corespunzătoare a examenelor amintite.

Examinarea citologică a epanșamentelor, a presupus pentru început obținerea acestora prin punșia (centeza) cavităților seroase interne. Cercetările s-au realizat pe 208 probe de epanșament recoltate de la toate speciile de animale incluse în acest studiu, ce au fost analizate din punct de vedere cantitativ și calitativ.

Tehnica de prelevare a eșantioanelor s-a făcut prin punșia cavităților seroase, tehnică puțin traumatizantă și de un real interes în stabilirea unui diagnostic corect. A fost respectată cu strictețe, nu a necesitat anestezie generală, în anumite situații s-au realizat anestezii locale. Locul de elecție diferă în funcție de specie, acesta s-a tuns, s-a dezinfectat cu tinctură de iod pentru a evita contaminarea. Probele de epanșament recoltate de la 100% din cazuri, au fost prelucrate într-un interval de timp cât mai scurt din momentul prelevării acestuia în scopul evitării apariției modificărilor *in vitro* și a degradării celularității (citoliză, modificări ale morfologiei celulelor).

La probele luate în studiu au fost analizate caracterele fizice, chimice și microscopice. Epanșamentele identificate le-am grupat într-o primă etapă în funcție de parametrii biochimici



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PENSANELOR VÂRSTNICE
ASPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

determinați (NTCN/ μ L și PT g/dl), ca apoi să realizăm o încadrare respectând clasificarea, ierarhia și criteriile citomorfologice de identificare a leziunilor asociate epanșamentelor în patologia veterinară, din care menționăm: tulburări circulatorii, procese inflamatorii și procese tumorale.

În subcapitolul 5.3.1. – **“Studiul biochimic privind epanșamentele identificate la animale”** s-a urmărit determinarea concentrației proteinelor totale din lichid (PT g/dl) - în acest scop a fost utilizat un refractometru pe care s-a aplicat o picătură de lichid.

În subcapitolul 5.3.2. - **“Studiul citologic privind epanșamentele identificate la animale”** s-a urmărit cuantificarea celulelor nucleate din epanșament (NTCN/ μ L), prin metoda manuală, clasică-hemocitometrică folosind camera de numărat BÜRKER-TÜRK dar s-a utilizat și analizatorul hematologic automat MS9 din dotarea Laboratorului de Citologie și Anatomie Patologică ENVA.

Ulterior, s-au încadrat prelevatele pe baza parametrilor în cele 3 clase etiopatogenetice: transsudat, transsudat modificat și exsudat, după metodologia recomandată de literatura franceză, în conformitate cu valorile de referință cunoscute.

Astfel, un număr de 132 de probe au fost evaluate cantitativ, din care 15% probe se încadrează în categoria transsudate, 57% de probe au fost transsudate modificate, iar 28% fiind exsudate.

Transudatele s-au caracterizat prin celularitate scăzută și conținut mic în proteine. Transudate și transudatele modificate au apărut datorită extravazării pasive neinflamatorii (epanșament pasiv/chilos) și cauzate de neoplazii. Transudatele modificate au o concentrație moderată de celule, concentrația proteinelor fiind conform valorilor de referință, cu unele excepții în care numărul important de celule este specific epanșamentelor de tip chilos.

Exsudatele identificate au prezentat concentrații mari de proteine și număr important de celule și au avut drept cauză procesele inflamatorii, neinfecțioase iritative și necrotice.

În subcapitolele 5.3.4.-**“Citomorfopatologia cavității pleurale”**, 5.3.5. **“Citomorfopatologia cavității pericardice”** și 5.3.6.-**“Citomorfopatologia cavității peritoneale”** sunt prezentate și descrise procesele patologice ale cavității pleurale, pericardice și peritoneale, diagnosticate pe baza coroborării anamnezei, datelor examenelor clinice, cu aspectele macroscopice, citologice și histopatologice pe cazuistica noastră.

În subcapitolul 5.3.4. - **“Citomorfopatologia cavității pleurale”** au fost prezentate și ilustrate tulburări circulatorii, inflamatorii și tumorale asociate epanșamentelor pleurale, astfel: tulburările circulatorii sunt reprezentate prin prezența hidrotoraxului 16%, hemotoraxului 4% și



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PENSANELOR VÂRSTNICE
ASPOSDRU



Fondul Social European
PROGRAS 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

chilotoraxului 3%; leziunile inflamatorii fiind încadrate în: pleurezii seroase/sero-hemoragice 6,9%, sero-fibrinoase/fibrinoase 7,4%, purulente difuze/focalizate 2%, gangrenoase 2% și granulomatoase 1%, pleureziile sero-fibrinoase/fibrinoase situându-se pe primul loc. Pleureziile au fost decelate de cele mai multe ori macroscopic, citologic și histopatologic, fiind frecvente la majoritatea speciilor.

Epanșamentele asociate proceselor tumorale întâlnite în acest subcapitol sunt reprezentate de epanșament pleural asociat carcinomului pulmonar diagnosticat atât la câine cât și la pisică, epanșament asociat posibil mezoteliomului pleural, epanșament asociat metastazei pulmonare adenocarcinomatoase de la nivelul glandei mamare la pisică. Cel mai frecvent examenul histopatologic a confirmat diagnosticul obținut prin examenul citologic.

În subcapitolul 5.3.5. - "**Citomorfopatologia cavității pericardice**" au fost identificate și ilustrate colecții intracavitare, inflamații pericardice și epanșamente asociate metastazei de la nivelul glandei mamare la câine, astfel: colecțiile lichide intracavitare au fost reprezentate de hidropericard și hemopericard, cu predominanța hidropericardului la majoritatea speciilor; inflamațiile pericardice au fost reprezentate prin pericardita seroasă și serofibrinoasă, cu o incidență mai mare a pericarditei sero-fibrinoase; epanșamentul tumoral a fost asociat metastazei carcinomului chistic localizat mamar la cățea. De asemenea, rezultatele examenului citologic au fost completate cu examenul macroscopic și histopatologic, acesta din urmă confirmând diagnosticul lezionar. Leziunile identificate citomorfopatologic sunt în conformitate cu cele descrise de literatura de specialitate.

În subcapitolul 5.3.6. - "**Citomorfopatologia cavității peritoneale**" tulburările circulatorii sunt reprezentate prin hidroperitoneu sau ascita în 17% din cazuri, hemoperitoneu în 5% din cazuri, uroperitoneu 1% din cazuri și biloperitoneu 1 caz.

Leziunile inflamatorii sunt încadrate în peritonite serofibrinoase (2,5%), peritonite fibrinoase (3,5%), fibrinohemoragice (0,5%), purulente difuze și focalizate (4,5%), peritonite induse de paraziți (3%), peritonitele purulente situându-se pe primul plan. Atât tulburările circulatorii cât și procesele inflamatorii au fost identificate macroscopic, citologic și histopatologic, și diagnosticate în unele situații prin coroborarea datelor examenelor clinice, anamneză și examenele complementare realizate (examenul bacteriologic, radiologic).

Epanșamentele asociate proceselor tumorale peritoneale sunt relativ rare (1,5%), reprezentate de epanșament asociat formațiunii ovariene de tip epitelial, epanșament asociat mastocitomului splenic, epanșament asociat hemangiosarcoamelor. Confirmarea originii formațiunilor tumorale s-a realizat prin examenul histopatologic la 1% din cazurile analizate.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
ASRPOSDRU



Fondul Social European
PRIORITATE 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

Din cele 14% din prelevate ce conțin germeni bacterieni am identificat: anaerobi (*Clostridium spp.*), la 7% din culturi; 45% din culturi conțin aerobi (facultativi anaerobi, *Pasteurella spp.*, *Arcanobacterium pyogenes*); 24% conțin enterobacterii (*E. Coli*); 24% conțin *Streptococcus spp.*

În cadrul cercetărilor efectuate în capitolul VI - "**Imunocitochimia aplicat în diagnosticul diferențiar între carcinom, mezoteliom și timom**" s-au realizat examene imunocitochimice de evidențiere a markerilor celulari capabili să aducă argumente în diagnostic. Astfel, studiul imunocitomarcajului a fost aplicat în diagnosticul diferențiar între carcinom, mezoteliom și timom, la 3 cazuri (pisici) cu epanșamente neoplazice, examinate și citologic.

S-a folosit metoda imunocitochimică de punere în evidență a celulei tumorale fie de origine epitelială sau limfocitară (limfocite T, limfocite B), folosind anticorpi monoclonali specifici pentru fiecare clasă de celule, aplicați pe prelevate proaspete (lame cu celule proaspăt etalate).

Prin metoda imunocitochimică celulele tumorale maligne au fost recunoscute la un singur caz din cele trei evaluate (carcinoma pleural). La 2 cazuri imunocitomarcajul a fost negativ datorită blocajului anticorpilor specifici de către fondul intens proteic și numărului redus de celule din prelevat, diagnosticul fiind de suspiciune de malignitate.

Markerul imunocitochimic cu sensibilitate mare în realizarea unei diferențieri între lichidele de epanșament asociate mezoteliomului și cele asociate carcinomului s-a dovedit a fi Citokeratina A1/AE3.

Capitolul VII - "**Corelații între rezultatele citologice și histopatologice la speciile de animale examinate**", s-a evaluat sensibilitatea și specificitatea examenului citologic al epanșamentelor. În acest scop s-a realizat din epanșamente prelevate intravital, respectiv epanșamente pasive (neinflamatorii), epanșamente active (inflamatorii) și în deosebi, din epanșamente asociate proceselor tumorale, compararea datelor obținute în urma interpretării citologice cu rezultatele examenului histopatologic, realizat ulterior din fragmente de organe cu leziuni asociate epanșamentelor provenite de la animalele moarte sau eutanasiate, în vederea confirmării și/sau infirmării datelor obținute citologic.

Pentru 99% din cazuri diagnosticul histopatologic a confirmat rezultatele obținute prin examenele citologice, cu o singură excepție, caz în care din punct de vedere citologic, s-a suspionat metastaza adenocarcinomului mamar, însă confirmarea histopatologică a fost de adenom mamar simplu.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PENSANELOR VÂRSTNICE
ASIGURĂRI



Fondul Social European
PRIORITATE 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

Examenul citologic se încadrează în algoritmul de diagnostic al stărilor patologice însoțite de colecții cavitare. Rezultatele examenului citologic contribuie la stabilirea diagnosticului de certitudine prin coroborarea cu anamneza, examenele clinice, bacteriologice și examenele histopatologice.

În capitolul VIII – “***Tabele recapitulative***”, s-a expus sub forma tabelelor populația luată în studiu, în funcție de specie, identificarea cavității seroase investigate, specificările clinice obținute și în mod special, valorile parametrilor cantitativi, determinate obligatoriu din epanșamentele prelevate, respectiv proteinele totale (PT g/dl) și numărul total de celule nucleate (NTCN/ μ L) încheind cu încadrarea etiopatogenetică.