



Arianna De Rossi, Anna Miglietta, Giovanni De Rossi

Centro oculistico e otorinolaringoiatrico, Studi Santa Chiara - Verona

La citologia congiuntivale per la diagnosi e il follow-up delle congiuntiviti allergiche

Abstract: La diagnosi differenziale delle congiuntiviti spesso non è semplice, per quanto "l'occhio rosso", la lacrimazione e la sensazione di corpo estraneo siano tra i più frequenti disturbi lamentati dai pazienti. In particolare è importante che la congiuntivite allergica venga correttamente riconosciuta e trattata, anche dall'oculista, come manifestazione di una patologia sistemica come l'allergia, che può avere conseguenze anche gravi a lungo termine. In questo contesto la citologia congiuntivale mediante scraping è una tecnica che può essere di aiuto per l'oculista, sia per la diagnosi che il follow-up delle patologie della superficie oculare, anche la congiuntivite allergica. La tecnica è inquadrabile in un approccio di medicina di precisione in cui la diagnosi e la stadiazione clinica vengono definite sulla base delle cellule infiammatorie osservabili a livello congiuntivale, e documentate con immagini. Per la sua alta informatività, bassa invasività e praticità di utilizzo, la citologia congiuntivale potrebbe essere particolarmente adatta ad essere eseguita in autonomia dall'oculista a livello ambulatoriale.

Keywords: Citologia congiuntivale, diagnosi di precisione, congiuntivite allergica, congiuntivite non-allergica.

Introduzione

Le congiuntiviti allergiche sono tra le più comuni patologie della superficie oculare nella popolazione generale. La sintomatologia di carattere aspecifico (prurito, lacrimazione, sensazione di corpo estraneo, fotofobia) e la semeiologia clinica altrettanto aspecifica (iperemia, chemosi, papille congiuntivali tarsali) pongono spesso problemi di diagnosi differenziale (1-3). Tramite terapie antibiotiche e/o cortisoniche topiche empiriche, non motivate da una diagnosi definita di patologia, spesso non è possibile ottenere un buon controllo dei sintomi a lungo termine, con conseguente insoddisfazione del paziente. È importante ricordare che la congiuntivite

allergica rappresenta una possibile manifestazione clinica di quella che è una patologia sistemica: l'allergia, ovvero una reazione da ipersensibilità immediata che si verifica in risposta ad antigeni ambientali definiti allergeni, in soggetti atopici. In questi soggetti, per una predisposizione prevalentemente genetica, dopo la prima esposizione all'antigene, si verifica una sensibilizzazione ed una risposta abnorme del sistema immunitario ai successivi contatti con l'allergene.

Nei casi più gravi la risposta immunitaria abnorme può avere interessamento sistemico e comportare grave restringimento delle vie aeree fino ad asfissia e collasso cardiovascolare fino

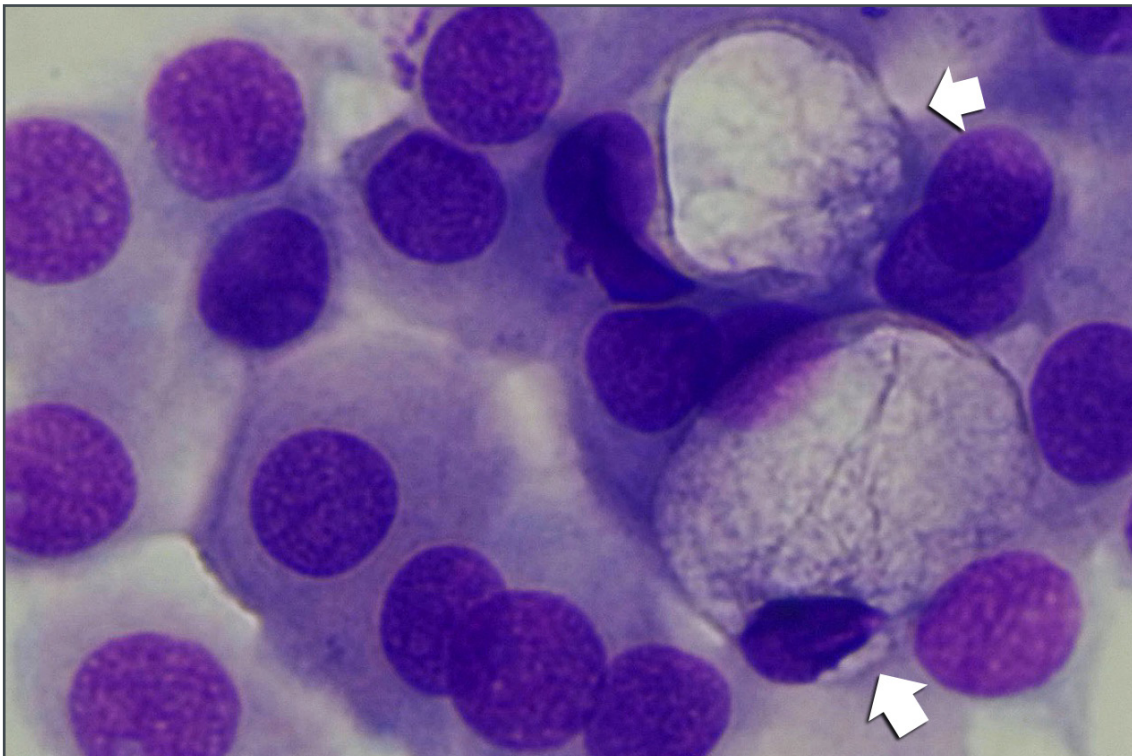


Figura 1 - Citologia congiuntivale in condizioni normali. Si notino le due cellule caliciformi mucipare (freccie), tra le cellule epiteliali circostanti.

allo shock anafilattico (4-6).

Pertanto, anche quando il sospetto diagnostico nasce dall'oculista è importante che il paziente venga inquadrato in modo multidisciplinare da otorino, pneumologo, allergologo, soprattutto quando i sintomi non sono solo oculari. Infatti, la patologia allergica varia nel tempo in termini di quali sono gli allergeni verso cui un determinato soggetto è sensibilizzato (ad esempio l'allergia al cipresso può evolvere verso l'allergia all'acaro della polvere) e di quali sono le sedi anatomiche in cui si manifesta l'ipersensibilità (ad esempio la diagnosi ed il trattamento precoce della patologia allergica può prevenire lo sviluppo di asma nei bambini, anche se la patologia esordisce come congiuntivite).

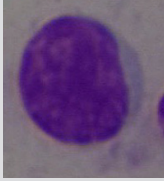
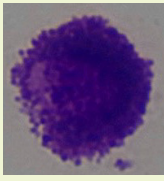
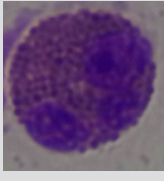

Un sospetto diagnostico che nasca dall'oculista, confermato da indagini adeguate, consente di inquadrare correttamente il paziente e di fare la differenza nella storia naturale della patologia allergica (4).

La citologia congiuntivale mediante scraping

I meccanismi immunitari che sottendono l'ipersensibilità immediata sono analoghi per tutte le mucose dell'organismo che vengano interessate (congiuntivite, rinite, bronchite asmatica), e sono mediati dalle cellule. Esiste una tecnica che ci consente di visualizzare queste cellule a livello congiuntivale (6). La citologia congiuntivale mediante scraping è una tecnica diagnostica non invasiva estremamente utile per la diagnosi differenziale delle patologie della superficie oculare, tra cui le congiuntiviti allergiche.

La tecnica può essere eseguita in tutti i suoi passaggi in autonomia dallo stesso oculista che visita il paziente. Consiste nel prelievo delle cellule superficiali della congiuntiva tarsale, la deposizione su vetrino, la fissazione mediante seccatura all'aria, la colorazione con May-Grunwald Giemsa e l'osservazione microscopica a ingrandimento 1000x.

TABELLA 1
CELLULE INFIAMMATORIE OSSERVABILI ALLA CITOLOGIA CONGIUNTIVALE MEDIANTE
SCRAPING E SINTESI SCHEMATICA DEL LORO RUOLO NELLE PATOLOGIE ALLERGICHE.

	LINFOCITA	Alla prima esposizione all'allergene, viene stimolata una risposta Th2 dei linfociti T CD4+ con produzione di anticorpi dell'isotipo IgE
	MASTOCITA	Le IgE si legano ai recettori ad alta affinità presenti sulla membrana cellulare dei mastociti situati in posizione strategica nelle mucose. In questo modo i mastociti vengono sensibilizzati. Alle successive esposizioni all'allergene, questo lega le IgE sulla membrana dei mastociti e ne provoca la degranulazione e la liberazione di: <ul style="list-style-type: none"> • Istamina → aumento della permeabilità vascolare • Mediatori lipidici dell'infiammazione (leucotrieni, trombossani, prostaglandine) → bronco-costrizione • Enzimi → danno e rimodellamento tessutale • Citochine → reclutamento di altre cellule infiammatorie tra cui eosinofili e neutrofilo
	EOSINOFILO	Gli eosinofili attivati da IL-5 prodotta dai linfociti Th2 vengono stimolati alla degranulazione, con liberazione di: <ul style="list-style-type: none"> • Proteine cationiche → killing di cellule ospiti • Perossidasi eosinofila → danno tissutale
	NEUTROFILO	Granulociti polimorfonucleati con nuclei polilobulati, vengono reclutati in contesti infiammatori acuti e cronici

In condizioni non patologiche, alla citologia congiuntivale è possibile osservare cellule epiteliali e caliciformi mucipare (Fig. 1) (7-8).

In condizioni patologiche invece la tecnica consente di osservare direttamente quali cellule sono coinvolte nei processi infiammatori in atto a livello della congiuntiva. La tabella 1 mostra quali cellule infiammatorie sono identificabili alla citologia congiuntivale nel corso di patologie allergiche.

Oltre a informazioni qualitative sul tipo di cellule e sul loro stato funzionale (attivazione, degranulazione come illustrato in fig. 2), la citologia

può fornire anche informazioni semiquantitative in termini di numero di cellule infiammatorie visibili per campo microscopico.

Queste caratteristiche rendono la citologia utile sia per la diagnosi che il follow up in corso di terapia, essendo la tecnica ripetibile nel corso del tempo.

Data la medesima patogenesi IgE mediata, spesso pazienti affetti da congiuntivite allergica sono anche affetti da rinite allergica, con possibilità di correlare il quadro citologico oculare con quello nasale, combinando citologia congiuntivale e citologia nasale (7-9).

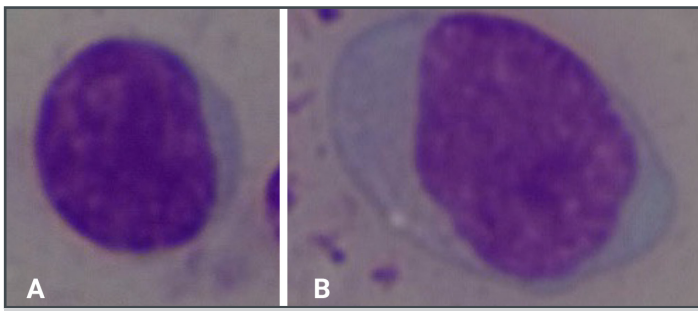


Figura 2 - A linfocita quiescente. B linfocita attivato.

CASI CLINICI

Di seguito vengono descritti alcuni casi clinici di frequente riscontro in ambulatorio, in cui la citologia congiuntivale si è rivelata utile per la diagnosi e il follow up di patologie allergiche e non.

Caso 1

Paziente donna di 31 anni, riferisce allergia stagionale (ad allergeni non meglio specificati) con intenso prurito oculare fin da bambina, in terapia con antistaminico topico al bisogno su consiglio dell'oculista di fiducia. Riferisce che si gratta spesso gli occhi e riferisce calo del visus da alcuni mesi. Non le sono mai stati prescritti approfondimenti diagnostici.

Il sospetto diagnostico di congiuntivite allergica, sostenuto da rilievi clinici come il sintomo

del prurito oculare, necessita di una conferma dall'esecuzione di prove allergologiche che risultino positive per almeno un allergene (skin prick test per inalanti oppure dosaggio delle IgE totali congiuntamente al test ELISA per allergeni specifici su campioni ematici) (11, 12). Notare bene che un dosaggio delle IgE totali nei limiti di norma non esclude la diagnosi di allergia, e deve essere sempre accompagnato dal test ELISA per il dosaggio delle IgE specifiche per allergene.

Una congiuntivite allergica non trattata correttamente non consente di controllare il sintomo del prurito oculare, e lo strofinamento oculare a lungo termine può causare patologie ectasiche corneali nel tempo, come nel caso di questa paziente (Fig. 3).

La citologia congiuntivale in questo caso mostrava mastociti in degranulazione, numerosi neutrofili e linfociti (Fig. 4).

Le prove allergologiche risultavano positive per graminacee ed epitelio e forfora di gatto, con conferma della diagnosi di congiuntivite allergica. La diagnosi precoce di allergia può cambiare la storia naturale della malattia oculare (13).

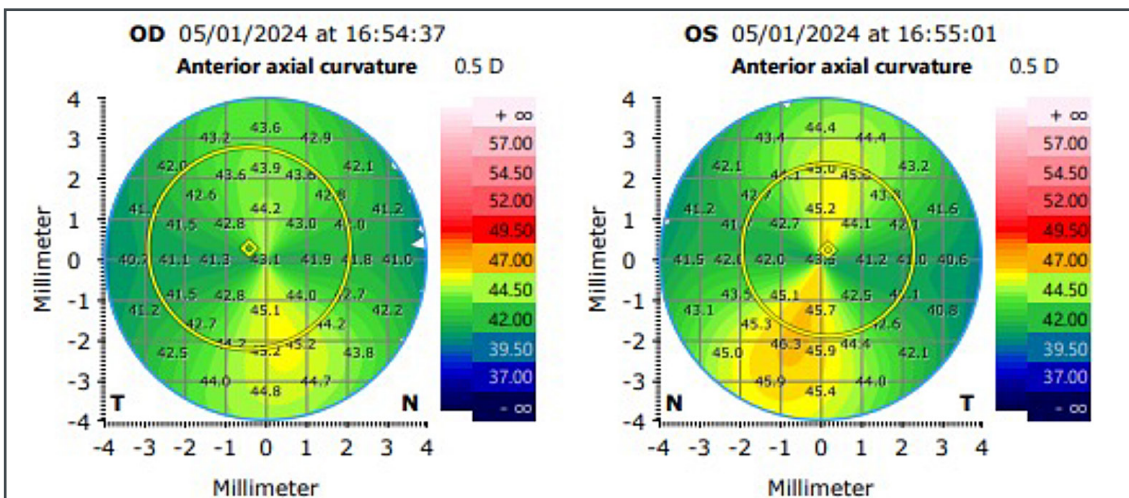


Figura 3 - AS-OCT mostra quadro compatibile con cheratocono nella paziente del caso 1 .

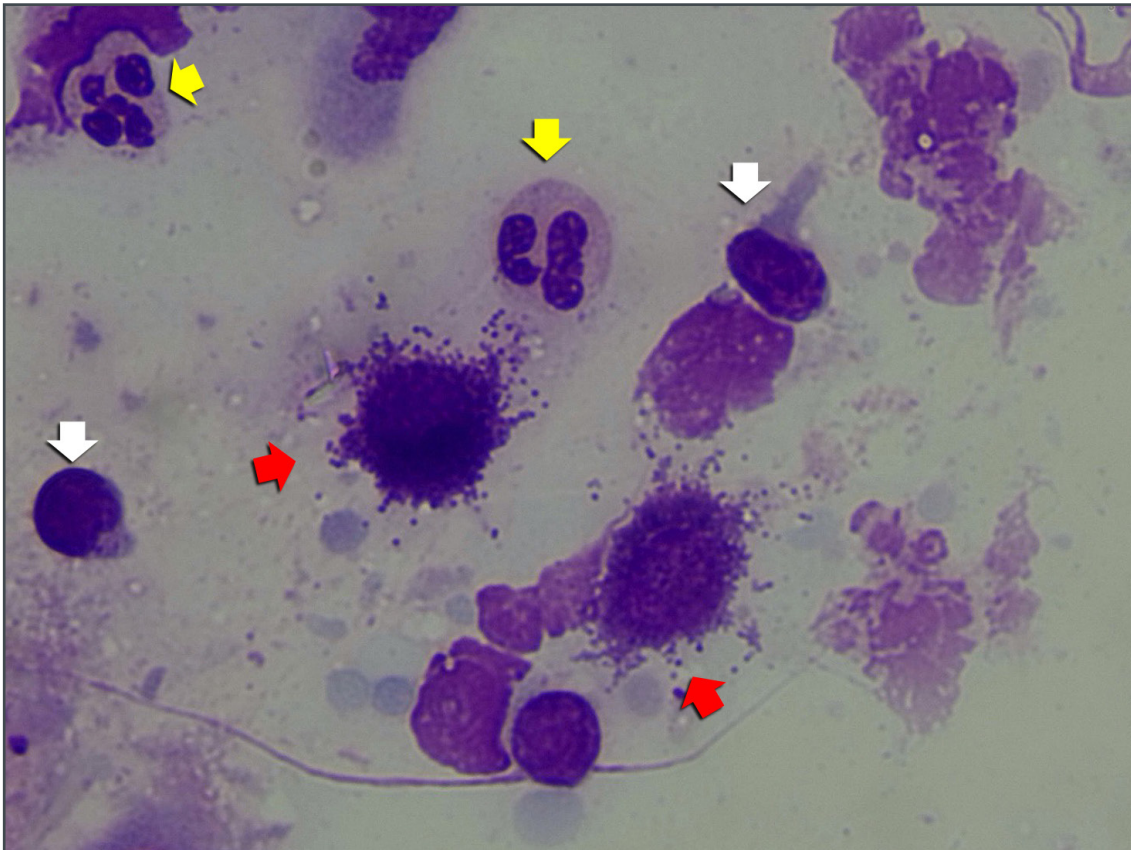


Figura 4 - Citologia congiuntivale della paziente del caso clinico 1. Notare mastociti in degranulazione (freccia rossa), linfociti (freccia bianca), neutrofilo (freccia gialla).

Si pensi anche alla cheratocongiuntivite Vernal nei bambini: la patologia palpebrale non riconosciuta e trattata può portare alla formazione di ulcere a scudo corneali che possono essere suscettibili di sovrainfezioni batteriche e lasciare esiti cicatriziali sulla cornea con conseguenze permanenti sulla visione (14).

Caso 2

Nel mese di febbraio, paziente maschio di 75 anni si presentava in ambulatorio lamentando bruciore oculare, lacrimazione, abbondanti secrezioni ed escare della cute perioculare da una settimana in occhio sinistro.

L'occhio destro era totalmente asintomatico. Il paziente negava allergie note.

Il paziente aveva una storia di herpes labiale frequente, e riferiva una pregressa cheratite erpetica.

Non si poteva escludere che le escare derivassero da coalescenza di vescicole erpetiche rotte; la diagnosi differenziale si poneva anche con una congiuntivite batterica.

La Citologia congiuntivale del paziente mostrava: eosinofili e mastociti in degranulazione, con alcuni neutrofilo, batteri assenti (Fig. 6).

Pertanto venivano consigliate prove allergiche per inalanti che risultavano positive per cupressacee (periodo di fioritura dicembre-aprile).

La citologia congiuntivale ha posto il sospetto clinico di blefarocongiuntivite allergica, che è stato poi confermato dalle prove allergologiche. Data l'assenza di batteri documentata con citologia congiuntivale, non è stata prescritta terapia antibiotica empirica non necessaria.

Caso 3

Paziente donna di 34 anni, veniva inviata alla

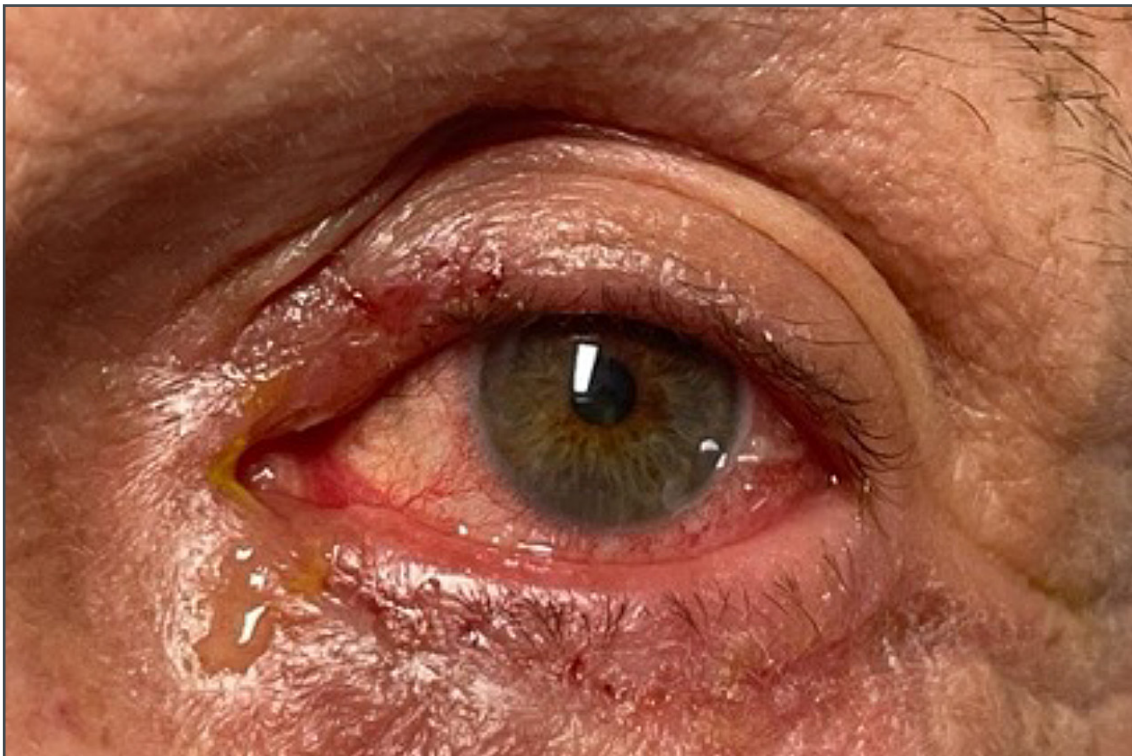


Figura 5 - Caso 2: aspetti clinici. Iperemia congiuntivale con alcune papille. Non ipertono oculare. Sofferenza epiteliale puntata diffusa. Cute perioculare con fissurazioni e escare soprastanti.

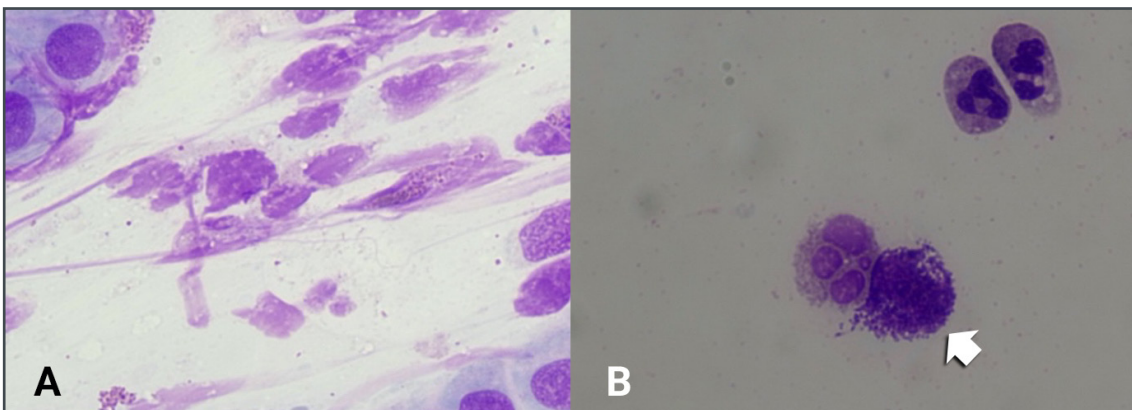


Figura 6 - A: granuli di eosinofili sparsi su tutto l'ambito. B: mastocita in degranulazione (freccia) e tre neutrofili.

nostra attenzione da collega oculista per approfondimento diagnostico con citologia oculare. La paziente lamentava secrezioni mucose alla mattina in entrambi gli occhi, bruciore, sensazione di corpo estraneo da circa sei mesi. Aveva eseguito esami di screening per la malattia dell'occhio secco risultati negativi. Su consiglio di diversi oculisti, aveva utilizzato molti tipi di colliri: lacrime artificiali, cortisonici, associazioni antibiotico-cortisoniche,

antistaminici, senza ottenere miglioramenti permanenti dei sintomi, né una diagnosi. Venivano da noi eseguite prove allergologiche che risultavano negative per inalanti. Il quadro citologico oculare mostra numerosi neutrofili, mastociti ed eosinofili in degranulazione. Veniva posta diagnosi di congiuntivite non-allergica a prevalenza eosinofilo-mastocitaria (7). Le congiuntiviti non-allergiche sono patologie

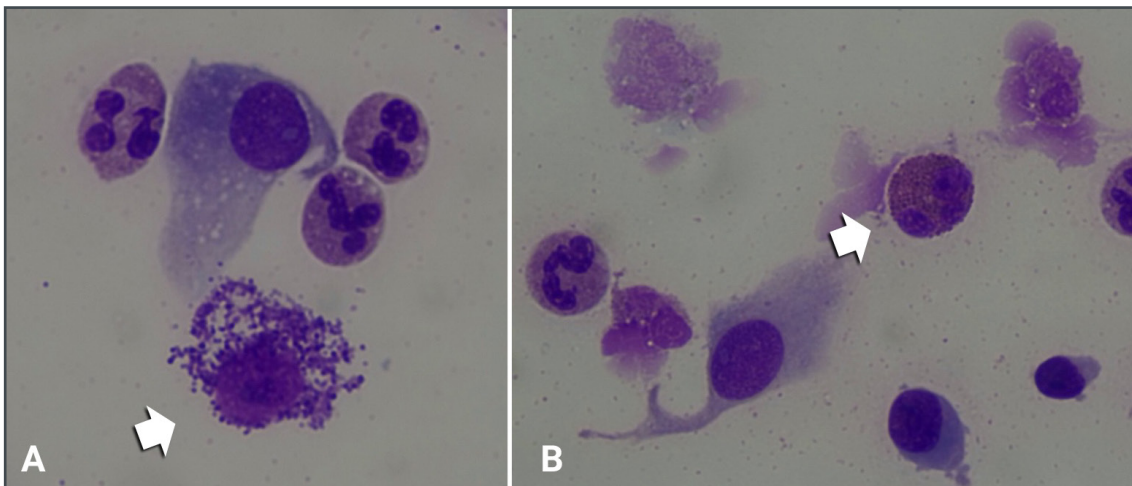


Figura 7 - Citologia congiuntivale della paziente nel caso 3. A sinistra mastocita in degranulazione, a destra eosinofilo (freccia).

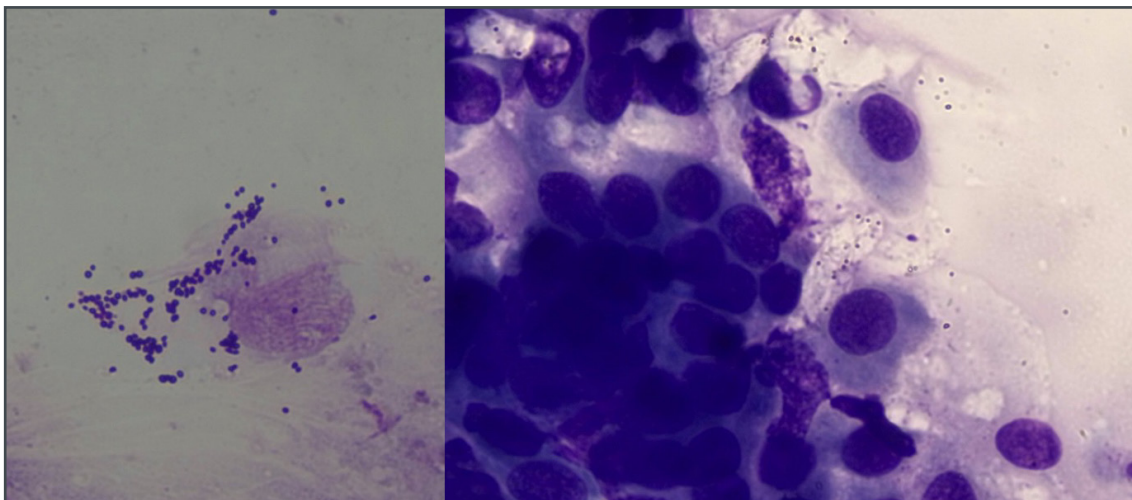


Figura 8 - Citologia nasale di paziente affetta da rinite non allergica mastocitaria, si notino i numerosi granuli di mastociti.

della superficie oculare relativamente comuni e fortemente sottodiagnosticate, analogamente alle riniti non-allergiche la patogenesi è sostenuta da cellule immunitarie quali mastociti ed eosinofili, ma la patologia non è allergica, in quanto non IgE mediata. Queste patologie sono congiuntiviti "cellulari" che non possono essere identificate senza la citologia congiuntivale e rappresentano l'analogo oculare delle riniti non allergiche.

Nel caso della paziente il quadro citologico nasale si presentava simile a quello oculare con una rinite non-allergica mastocitaria (Fig. 8) (8-10).

Conclusioni

La citologia congiuntivale mediante scraping è una tecnica utile per la diagnosi differenziale delle patologie della superficie oculare. Ha il vantaggio di poter essere eseguita in autonomia dall'oculista, a livello ambulatoriale. Richiede solo un oculista addestrato, un laboratorio di livello standard e un microscopio ottico (7, 8). La tecnica citologica mediante scraping non può competere con l'informaticità di altre tecniche più sofisticate come la citologia ad impressione (15), ma per la sua maneggevolezza può trovare ampia applicazione a livello ambulatoriale per i casi clinici di "occhio rosso" che si presentano tutti i giorni.

REFERENCES

1. Schmidl D, Schlatter A, Chua J, Tan B, Garhöfer G, Schmetterer L. Novel Approaches for Imaging-Based Diagnosis of Ocular Surface Disease. *Diagnostics (Basel)*. 2020 Aug 13;10(8):589. doi: 10.3390/diagnostics10080589. PMID: 32823769; PMCID: PMC7460546.
2. Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K, Gupta PK, Karpecki P, Lazreg S, Pult H, Sullivan BD, Tomlinson A, Tong L, Villani E, Yoon KC, Jones L, Craig JP. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *Ocul Surf*. 2017 Jul;15(3):539-574. doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.001. Epub 2017 Jul 20. PMID: 28736342.
3. Bielory L, Delgado L, Katelaris CH, Leonardi A, Rosario N, Vichyanoud P. ICON: Diagnosis and management of allergic conjunctivitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2020 Feb;124(2):118-134. doi: 10.1016/j.ana.2019.11.014. Epub 2019 Nov 21. PMID: 31759180.
4. D'Amato G, Vitale C, Lanza M, Sanduzzi A, Molino A, Mormile M, Vatrella A, Bilò MB, Antonicelli L, Bresciani M, Micheletto C, Vaghi A, D'Amato M. Near fatal asthma: treatment and prevention. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2016 Jul;48(4):116-22. PMID: 27425166.
5. Brown AF. Anaphylactic shock: mechanisms and treatment. *J Accid Emerg Med*. 1995 Jun;12(2):89-100. doi: 10.1136/emj.12.2.89. PMID: 7582425; PMCID: PMC1342543.
6. Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S73-80. doi: 10.1016/j.jaci.2009.11.017. PMID: 20176269; PMCID: PMC2847274.
7. Lesame citologico nelle flogosi della superficie oculare. 2007. Salvatore Troisi, Antonio del Prete.
8. Kari O, Haahela T, Laine P, Turunen JP, Kari M, Sarna S, Laitinen T, Kovanen PT. Cellular characteristics of non-allergic eosinophilic conjunctivitis. *Acta Ophthalmol*. 2010 Mar;88(2):245-50. doi: 10.1111/j.1755-3768.2009.01599.x. Epub 2009 Nov 23. PMID: 19930216.
9. Gelardi M, Leo ME, Quaranta VN, Iannuzzi L, Tripodi S, Quaranta N, Canonica GW, Passalacqua G. Clinical characteristics associated with conjunctival inflammation in allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015 May-Jun;3(3):387-91.e1. doi: 10.1016/j.jaip.2015.01.006. Epub 2015 Jan 26. PMID: 25634218.
10. Gelardi M, Maselli del Giudice A, Fiorella ML, Fiorella R, Russo C, Soleti P, Di Gioacchino M, Ciprandi G. Non-allergic rhinitis with eosinophils and mast cells constitutes a new severe nasal disorder. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2008 Apr-Jun;21(2):325-31. doi: 10.1177/039463200802100209. PMID: 18547476.
11. Grobman L, Kitsen J, Mortazavi D, Geng B. Correlation of skin prick testing to environmental allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2021 Apr;126(4):378-384.e2. doi: 10.1016/j.ana.2020.10.010. Epub 2020 Oct 26. PMID: 33122125
12. Eriksson NE, Ahlstedt S. Diagnosis of reagenic allergy with house dust, animal dander and pollen allergens in adult patients. V. A comparison between the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), provocation tests, skin tests and RAST. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1977;54(1):88-95. doi: 10.1159/000231811. PMID: 324925.
13. Cingu AK, Cinar Y, Turkcu FM, Sahin A, Ari S, Yuksel H, Sahin M, Caca I. Effects of vernal and allergic conjunctivitis on severity of keratoconus. *Int J Ophthalmol*. 2013 Jun 18;6(3):370-4. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2013.03.21. PMID: 23826535; PMCID: PMC3693022.
14. Feizi S, Javadi MA, Alemzadeh-Ansari M, Arabi A, Shahraki T, Kheirkhah A. Management of corneal complications in vernal keratoconjunctivitis: A review. *Ocul Surf*. 2021 Jan;19:282-289. doi: 10.1016/j.jtos.2020.10.005. Epub 2020 Oct 24. PMID: 33148465.
15. Nicolle P, Liang H, Reboussin E, Rabut G, Warcoin E, Brignole-Baudouin F, Melik-Parsadaniantz S, Baudouin C, Labbe A, Reaux-Le Goazigo A. Proinflammatory Markers, Chemokines, and Enkephalin in Patients Suffering from Dry Eye Disease. *Int J Mol Sci*. 2018 Apr 17;19(4):1221. doi: 10.3390/ijms19041221. PMID: 29673232; PMCID: PMC5979502.