18-02-2019
Prof Cantile

TECNICA E DIAGNOSTICA NECROSCOPICA

- *Programma del corso:*
- *Introduzione;*
- *Tanatologia —> é la disciplina che studia le modificazioni che avvengono nel cadavere quando cessano le funzioni vitali;*
- *Metodologia necroscopica;*
- *Riconoscimento e interpretazione delle alterazioni organiche;*
- *Patologia forense —> esame necroscopico a fini giuridici.*

master COPY

ESAME NECROSCOPICO: **si tratta di una serie di operazioni sistematiche eseguite sul cadavere la cui finalitá ultima é stabilirne la causa di morte o della soppressione**. Requisito essenziale per procedere all' esame necroscopico é conoscere l' anatomia topografica con le differenze di specie, non serve una tecnologia particolarmente sofisticata per effettuare l' esame in se che é anche poco costoso, l' utilitá é peró notevole in quanto **permette la comprensione dei meccanismi patogenetici che hanno portato alla morte o alla soppressione dell' animale** fornendo informazioni preziose al veterinario clinico/chirurgo, inoltre ci permettono anche di evidenziare eventuali problemi che possono ricadere sulla salute di altri animali da reddito o da compagnia che hanno condiviso le stesse esposizioni ambientali, alimentari ecc dell' animale morto o anche eventuali problemi di salute che possono coinvolgere l' uomo.
Consideriamo che nonostante i progressi tecnologici in medicina veterinaria la percentuale di errori diagnostici rimane ancora alta:

- Circa il 10 % delle necroscopie rivela un' errata diagnosi clinica che ha determinato un errato approccio terapeutico e prognostico;
- Circa il 25% delle diagnosi delle cause di morte fase su base clinica sono errate. La necroscopia ci svela qualcosa che dal punto di vista clinico potrebbe essere stato malinterpretato.

L' esame necriscopico va fatto per vari motivi:

- *Verifica anatomica della diagnosi clinica;*
- *Evidenziare gli aspetti della malattia o dell'anomalia;*
- *Mettere in sequenza gli eventi che si sono sviluppati in quanto una malattia non solo inizia ma anche progredisce in un certo modo.*

É poi importante procedere all' esame necroscopico in quanto ci permette di individuare eventuali **malattie** zoonosiche ed anche la **descrizione e l' interpretazione di nuove malattie** che possono insorgere a causa dei cambiamenti climatici o anche di manifestazioni insolite di malattie giá note.
Anche a livello di ricerca sono importanti le necroscopie che ci aiutano a **cercare di capire come si sviluppano certe malattie**, infine sono importanti anche per la **valutazione di nuovi presidi diagnostici e terapeutici.**
Nei grossi animali i concetti sono esattamente analoghi ma bisogna considerare che le cause di decesso di animali in allevamento potrebbero anche essere legate alla conduzione non ideale dell' allevamento (contatto con selvatici, scarsa igiene, alimentazione non corretta). Un aspetto importante in determinate aree é il riconoscimento delle lesioni da predazione da canidi, questo é un aspetto da tenere in considerazione in quanto sono previsti degli indennizzi per l' allevatore in caso di attacco dimostrato da parte di selvatici.



INDENNIZZI PER GLI ALLEVATORI

In determinate aree possono essere richiesti **esami necroscopici anche sui selvatici per cercare di capire se ci sono malattie infettive che si stanno diffondendo** ex. Rogna sarcoptica nella volpe, o se ci sono problemi altri, in questo caso gli esami necroscopici ci aiutano a:

- *Ottenere informazioni sulle condizioni sanitarie di una certa popolazione di selvatici ex. Sovrappopolazione;*

- *Effettuare misurazioni biometriche o valutazioni sullo stato riproduttivo da correlare sia alla causa di morte che allo stato sanitario generale dell' esemplare esaminato.*

Infine dobbiamo considerare l' **ASPETTO FORENSE** che consiste in una **necroscopia diretta a rispondere a quesiti connessi a problematiche giudiziarie**, in questo caso viene richiesto al veterinario di determinare le cause di morte per dolo, bracconaggi e uccisioni illegali al fine di individuare il colpevole di atti criminosi, consideriamo che i reati contro gli animali sono perseguibili d' ufficio motivo per cui il procedimento penale si attiva anche in assenza di querela. Sempre la patologia forense ci serve anche per valutare eventuali responsabilità professionali del medico veterinario o vizi redibitori come compravendita di animali (ex. Acquisto di animale non sano).

Tutte le necroscopie ma in particolare quelle di tipo forense sono accertamenti tecnici irripetibili a causa delle modificazioni irreversibili che subisce il cadavere, proprio per questa ragione la necroscopia forense va eseguita in maniera molto attenta, bisogna raccogliere tutti i dati possibili partendo dal segnalamento dell' animale (numero di microchip), data, localizzazione, fotografie per documentare il tutto, eventualmente bisogna eseguire l'esame radiologico che ci puó servire per evidenziare la presenza di proiettili e pallini.

Come funziona la necroscopia forense? Il proprietario fa la denuncia, quindi si individuano i periti della parte accusante **CTPM** e della parte che si difende, il giudice si affida ad un consulente tecnico d' ufficio **CTU** che sará uno specialista del caso che riceve le informazioni e le spiega al giudice che terrá la sentenza andando in giudizio con i dati ricevuti. I dati devono essere presi in maniera inappuntabile in quanto il tutto andrá discusso in tribunale.

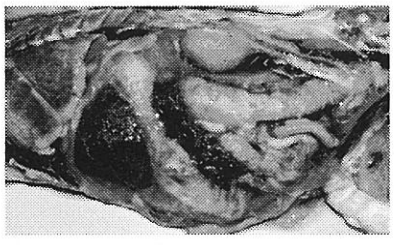
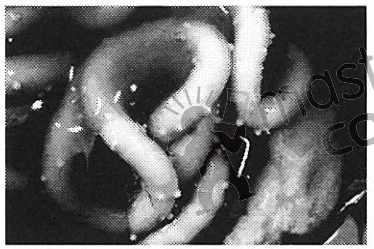
L' esame necroscopico quindi ha due finalitá principali:

- **SCOPO PRETTAMENTE DIAGNOSTICO;**
- **SOPO FORENSE.**

Si tratta di due situazioni diverse, accomunate dal fatto che bisogna raccogliere quante piú informazioni possibile ma **nel caso dello scopo forense bisogna stare attenti a che tutto sia inappuntabile dal punto di vista giudiziario.** L' esame a scopo prettamente diagnostico inoltre puó anche non essere completo, parliamo di **esame necroscopico parziale** legato ad un solo apparato, ad esempio in caso di tumore cerebrale ci limitiamo ad analizzare il SNC, questo si fa sia per motivi di tempo che di denaro.

Una volta eseguita la necroscopia possiamo arrivare a:

- **DIAGNOSI DEFINITIVA** —> in presenza di lesioni patognomoniche quindi legate ad una sola malattia, assolutamente riconoscibili. **Esempi**:
  - *Gatto con lesioni addominali con materiale verdastro luccicante, gelatinoso, puntini sparzi su intestino, fegato eccc. Parliamo di FIP (peritonite infettiva del gatto). Le lesioni sono piogranulomi e sono assolutamente riconducibili all' infezione da virus da FIP, sono lesioni patognomoniche.*

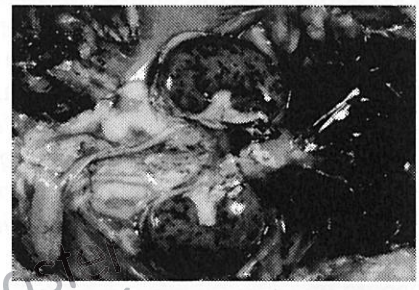
GATTO. Infezione da virus FIP (*Feline Infectious Peritonitis*)

  - *Cane con torsione e dilatazione gastrica con torsione della milza —> si tratta di una condizione macroscopicamente evidente quindi la diagnosi é definitiva.*



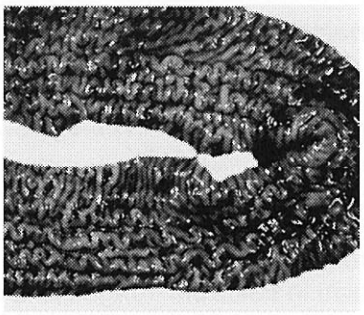

CANE. Torsione/dilatazione gastrica con torsione della milza

- *Cuccioli di meno di 2 settimane di etá, reni con puntolini rossi, sono macche emorragiche multifocali/disseminate bilaterali. Diversi cuccioli muoiono a distanza di poco tempo. Infezione da Herpesvirus di tipo 1 che é causa di morte nei cuccioli.*



CANE. Cucciolo. Infezione da CHV-1 (*Canine Herpesvirus type 1*)

- *Tratto intestinale del tenue di bovino con aspetto di mucosa corrugata, é indicativo di infezione batterica da Mycobacterium avium paratubercolosis, la diagnosi é definitiva: paratubercolosi.*



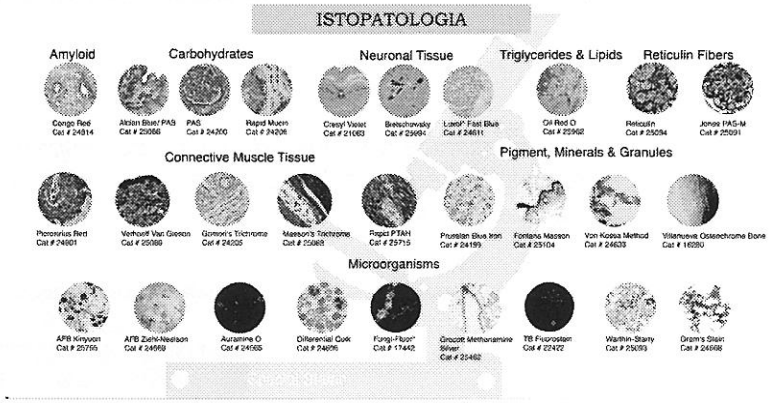
BOVINO. Paratubercolosi (*Mycobacterium avium* subsp. *paratubercolosis*)

- **DIAGNOSI PRESUNTA** —> abbiamo bisogno di esami collaterali per confermare la diagnosi, ex animale avvelenato con anticoagulante, probabile esposizione al tossico ma per dimostrarlo dobbiamo dimostrare la presenza del principio attivo tossico nell' organismo tramite certe analisi, la stessa cosa vale anche nel caso di malattie virali o batteriche;
- **ESCLUSIONE DI ALCUNE MALATTIE POSSIBILI** —> non abbiamo dati significativi ma magari per assenza di lesioni macroscopiche escludiamo certe cause di morte ad esempio escludiamo trauma, tumore ecc...

Come abbiamo detto peró l' esame necroscopico non ci da sempre delle risposte certe, a volte ci servono degli esami collaterali, il primo che fa il patologo é l' **ISTOPATOLOGIA** che richiede la necessitá di fissare i tessuti: *preleviamo dei campioni in sede di necroscopia, fissare il campione vuol dire metterlo in un liquido fissativo che in genere é uan soluzione tamponata di formalina a pH neutro che serve per evitare che il tessuto vada incontro ad autolisi dovuta agli enzimi presenti nel tessuto stesso e nei batteri che colonizzano il tessuto. Il liquido fissativo inoltre modifica anche la struttura delle molecole organiche del tessuto, le rende insolubili e le blocca rendendo il tessuto immodificabile sia*



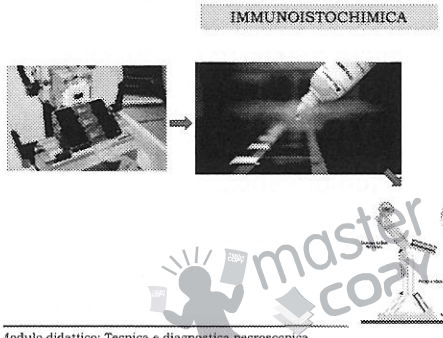
dal punto di vista biochimico che dal punto di vista morfologico.
N.B. Affinché la fissazione sia adeguata é importante che il rapporto campione/formalina sia adeguato, il campione non deve essere troppo grosso altrimenti la formalina non penetra e non blocca i processi. Il rapporto deve essere 1:10 —> 10 parti di liquido, 1 di tessuto, se facciamo pezzi piú grandi allora dobbiamo usare contenitori piú grossi. Sappiamo che la formalina penetra nei tessuti ad una velocitá di mezzo cm in 2-3 H, capiamo pertanto in relazione allo spessore del nostro campione quanto tempo deve trascorrere perché il campione sia totalmente fissato.
A questo punto il campione viene messo nelle gabbiettine di plastica, viene fatto passare in tutta una serie di soluzioni, viene disidratato in quanto l' obiettivo finale é far penetrare paraffina liquida nel tessuto, questa é liquida a circa 50 gradi ma non é solubile in acqua, solo in solventi lipidici per cui é necessario che il campione venga disidratato e per farlo usiamo concentrazioni crescendi di etanolo 70-80 fino al 100%, in questo modo per ragioni osmotiche viene estratta tutta l' acqua dal tessuto che sará sostituita dall' alchool, a questo punto possiamo mettere il tessuto in soluzioni che si diluiscono sia nell' alchool che nella paraffina, quindi con questi diluenti estraiamo l' alchool e permettiamo alla paraffina liquida di entrare, poi mettiamo il campione in un ripiano raffreddato e la paraffina si solidifica, ***il risultato finale sará un blocchetto di tessuto e paraffina che puó essere tagliato con microtomo che ci permette di fare sezioni molto sottili di circa 5 micron, quindi la sezione é pronta per essere colorata con vari metodi tra cui l' ematossilina eosina e a questo punto potremo vedere l' istologia del campione.***



Modulo didattico: Tecnica e diagnostica necroscopica

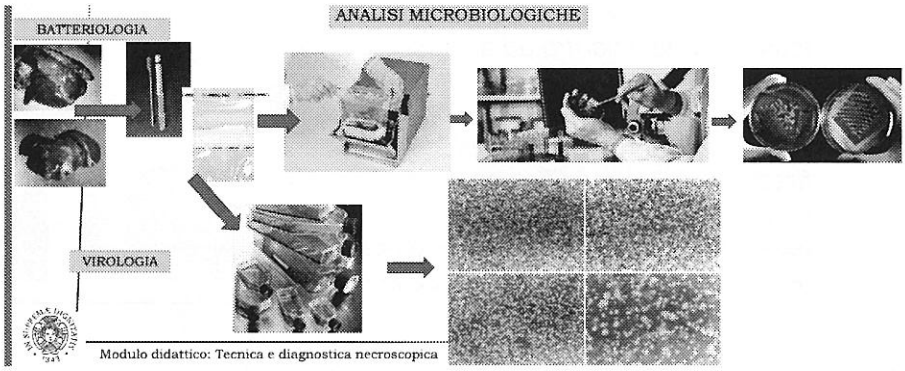
I metodi istologici sono tanti e altrettante sono le colorazioni che ci permettono di mettere in evidenza varie componenti del tessuto (zuccheri, connettivo ecc), ricordiamo che i lipidi vengono sciolti dall' alchool per cui vanno studiati in soluzioni congelate altrimenti vedremo solo dei vacuoli otticamente vuoti, per dimostrare la presenza dei lipidi pertanto bisogna usare soluzioni criostatiche con colorazioni specifiche.

Altre tecniche che si possono fare sono indagini che ci permettono di individuare un agente microbiologico come un virus, si lavora pertanto con l' **IMMUNOISTOCHIMICA:** si marcano degli Ac specifici contro un determinato Ag, si mettono nella sezione istologica e se qui é presente l' Ag allora gli Ac si legano, quindi attraverso una reazione istochimica dimostriamo che l' Ac marcato c' é, dove si trova (in quali cellule) e quanto ce ne é.
<u>Ricordiamo che la formalina uccide i batteri quindi per ricercare i batteri ed i virus il batteriologo ed il viriologo hanno bisogno di usare campioni freschi.</u>



Modulo didattico: Tecnica e diagnostica necroscopica

In caso di presunta intossicazione potremo fare esami di tossicologia, il substrato per le **indagini tossicologiche** nella maggior parte dei casi sono fegato e stomaco



Modulo didattico: Tecnica e diagnostica necroscopica

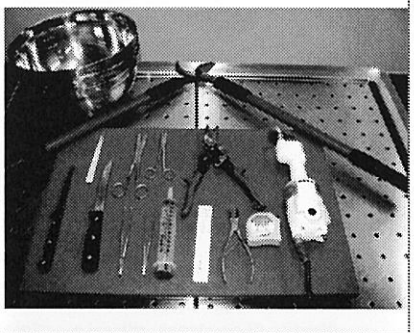
Possiamo utilizzare la **sierologia** per malattie infettive ed autoimmuni con la ricerca degli Ac.

Arriviamo infine ad **indagini molecolari** che ricercano gli agenti infettivi con tecniche piú sofisticate con la possibilitá di ritrovare frammenti del genome del patogeno. In ambito forense le indagini molecolari possono essere utili anche per la ricerca di tracce che ci permettono di individuare la specie responsabile dell' atto predatorio.

Nel 10 % dei casi la necroscopia non rivela lesioni tali da poter identificare la causa di morte... questo succede quando:
- **Abbiamo uno stato avanzato di decomposizione del cadavere;**
- **Non si osservano lesioni né macroscopiche né istologiche.**

In questo caso ci si puó arrivare per esclusione a:
- **Aritmie cardiache** che determinano morte senza alcuna alterazione visibile;
- **Neurotossine** —> ex. Curaro o tossina botulinica —> vanno a bloccare la trasmissione sinaptica quindi determinano alterazioni piú funzionali che altro;
- **Disordini metabolici** —> ex. Disturbo elettrolitico come iperpotassemia che provoca un blocco cardiaco per disturbi alla ripolarizzazione del cuore. Puó essere causa di morte e non ci da alcun segno visibile.

Dove si svolge la necroscopia? Dipende dalle dimensioni dell' animale, ci sono delle situazioni in cui l' animale non puó essere trasportato, in questo caso c' é la possibilitá di fare **necroscopia in campo** anche se non é preferibile sia perché non é comodo sia per la possibile diffusione del patogeno nell' ambiente. Sarebbe meglio operare in una zona piú protetta, in sale necroscopiche adatte o tuttalpiú in ambulatorio.





Le attrezzature necessarie per la necroscopia sono:
- Illumiinazione;
- Tavolo autoptico pulibile e disinfettabile con possibilitá di scolo per i liquidi;
- Tavolino accessorio per l' esame dei visceri;
- Apparecchi di ventilazione;
- Impianti adeguati per la pulizia di pareti, pavimenti e accessori.

Gli strumenti sono praticamente analoghi a quelli di un set chirurgico ma ci sono delle differenze, soprattutto in caso di grossi animali si puó ricorrere ad attrezzatura piú "grezza":
- *Coltelli di vario tipo;*
- *Pinze chirurgiche di varie dimensioni;*
- *Bisturi;*
- *Forbici;*
- *Metro per misurare lesioni o dimensioni di visceri;*
- *Lama vibrante per taglio della cavitá cranica.*
- *Bilancia per pesare eventuali organi e valutare il rapporto rispetto al peso di carcassa, ci sono infatti dei range indicativi.*
- *Apprecchiatura fotografica.*
- *Prova docimasica —> si guarda se il polmone galleggia o meno.*

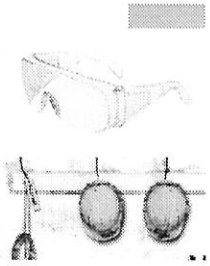
master COPY

N.B. Attenzione ad indossare guanti, calzari, tute, mascherine, occhiali.









Ci sono sempre dei rischi da considerare:
- **Rischio di lesioni traumatiche;**
- **Rischio biologico;**
- **Rischio chimico** —> ex. la formalina é cancerogena.