



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

**L'istopatologia in diagnostica suina:
quando una metodica diventa
discriminante**

**L'istopatologia in
diagnostica suina:
cosa e come
campionare e quali
sono i risultati attesi**

Giulia D'Annunzio – DVM, PhD student

**Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie -
UNIBO**

Anamnesi
Segnalamento
Segni clinici

Lesioni macroscopiche

Lesioni microscopiche

Indagini di laboratorio
(microbiologico,
biomolecolare,
tossicologico ecc.)

Causa di malattia

Diagnosi

Prevenzione e
controllo
malattie
contagiose,
pianificazione
di trattamenti
antimicrobici
mirati



PATOLOGIA SISTEMATICA: esame macroscopico + esame microscopico

SCOPO: Raccolta di evidenze oggettive riguardanti la patogenesi e l'esito dei processi patologici

STUDIO MORFOLOGICO:

1. Esame macroscopico → necropsopia
→ esame di organo isolato
2. Esame microscopico

Approccio orientato al problema



Approccio orientato al problema



Madson Madson, D. M., Patterson, A. R., Ramamoorthy, S., Pal, N., Meng, X. J., & Opriessnig, T. (2009). *Veterinary Pathology*, 46(4), 707-716. (2009).



Opriessnig, T., Meng, X. J., & Halbur, P. G. (2007). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(6), 591-615.



Approccio orientato al problema

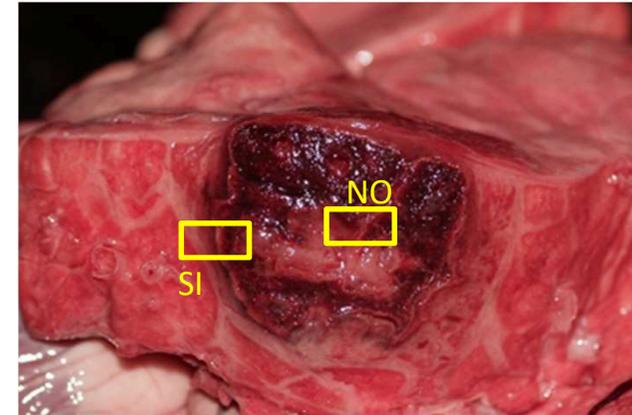
Sospetta patologia	Tessuti per il campionamento
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Polmoni
Enterite	Duodeno, digiuno, ileo, colon
Ileite (<i>Lawsonia intracellularis</i>)	Ileo, colon spirale, cieco
Poliartrite e polisierosite (<i>Mycoplasma hyorhinis</i>)	Polmone e pleura, pericardio
Polmonite enzootica (<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>)	Polmone
Porcine Circovirus Disease (PCVD) (PCV-2)	Polmone, milza, fegato, linfonodi, rene, ileo
Porcine Reproductive & Respiratory syndrome (PRRSV)	Polmone, linfonodi



Il campionamento per l'esame istologico

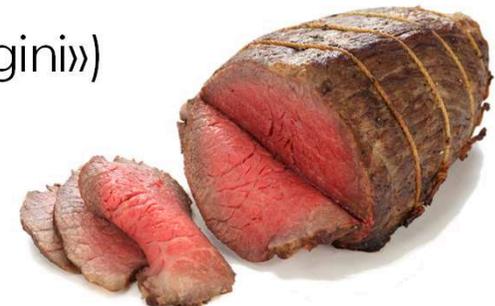
Caratteristiche del campione da fissare

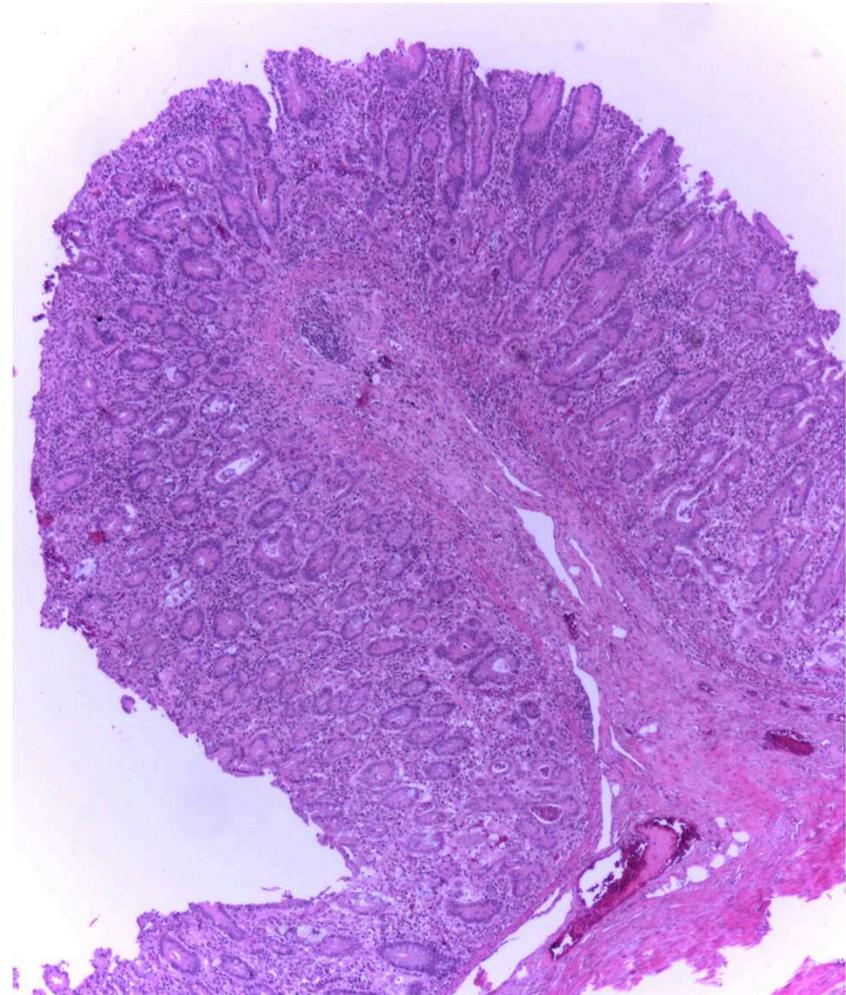
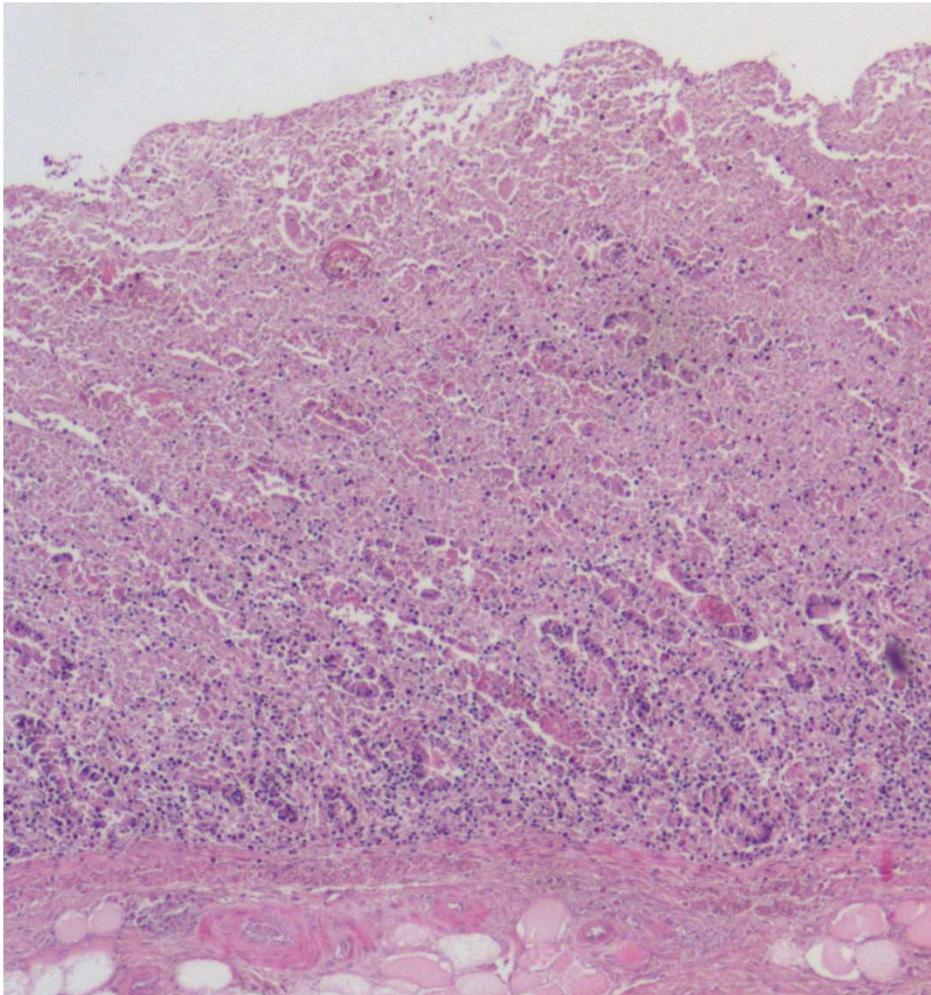
- Coerente con il quesito diagnostico
- Rappresentativo della lesione
- Dimensioni adeguate (≈ 1 cm)



IL campionamento efficace

- Rapidità → evitare autolisi = condiziona l'oggetto della diagnosi istologica!!
- Delicatezza
- Campionamento a livello di punti di transizione («margini»)





La buona riuscita di un preparato istologico dipende da una corretta fissazione, che mantenga inalterato il quadro del tessuto

Fissazione



- Preservare i tessuti bloccando i fenomeni di autolisi
- Proteggere dall'azione dei microrganismi
- **Conservare morfologia strutturale e ed ultrastrutturale del tessuto e della cellula**



Fissazione fisica

Campione fresco



Congelamento in
azoto liquido in lab

inclusione del
tessuto in OCT



Fissazione chimica

Agenti fissativi:

1. Primari

classificazione empirica (sulla base dell'effetto che producono su soluzioni di ovoalbumina):

- **Coagulanti:** es. ETANOLO
- **Non coagulanti:** es. FORMALDEIDE

2. Secondari: miscele fissative es.
LIQUIDO DI BOUIN



Formalina = soluzione di formaldeide al 4%

- Tamponata a pH 7-7,2
- Fissazione dei tessuti mediante formazione di ponti intermolecolari
- **Mantenimento delle caratteristiche antigeniche del tessuto = possibile applicazione di metodiche di rivelazione immunoistochimiche**
- Penetrazione nei tessuti: 1 mm/h = fissazione prolungata per i campioni di dimensioni maggiori
- **Rapporto campione:formalina \approx 1:20**
- **N.B. caratteristiche e dimensioni del contenitore!!!!**

WARNING!!!
Rischio cancerogeno



Contenitori a tenuta monouso



BIOPSAFE contenitore per la gest...
angelofranceschini.it



Contenitori pre-caricati con formal...
kaltek.it



BiopSafe - Kaltek
kaltek.it



BiopSafe - Kaltek
kaltek.it



Sicura, contenitore preriempito con formal...
diapath.it



Bioprotektor - Kaltek
kaltek.it



KLESSIDRA 20 ml. 27 contenitori pr...
securlab.it · Disponibile



Contenitori per Biopsie Securbiop® e FO...
tracesglobal.com



GBS INSTRUMENTS | Distribuzione Prodott...
gbsinstruments.com



Sicura, contenitore preriempito con for...
diapath.it



Bioprotektor - Kaltek
kaltek.it



Bio Optica
bio-optica.it



KLESSIDRA
bio-optica.it



Sicura, contenitore prerie...
diapath.it



KLESSIDRA 30 ml + Bioca...
securlab.it · Disponibile



Contenitori per Biopsie Securbiop® e FORMALeas® - ...
tracesglobal.com

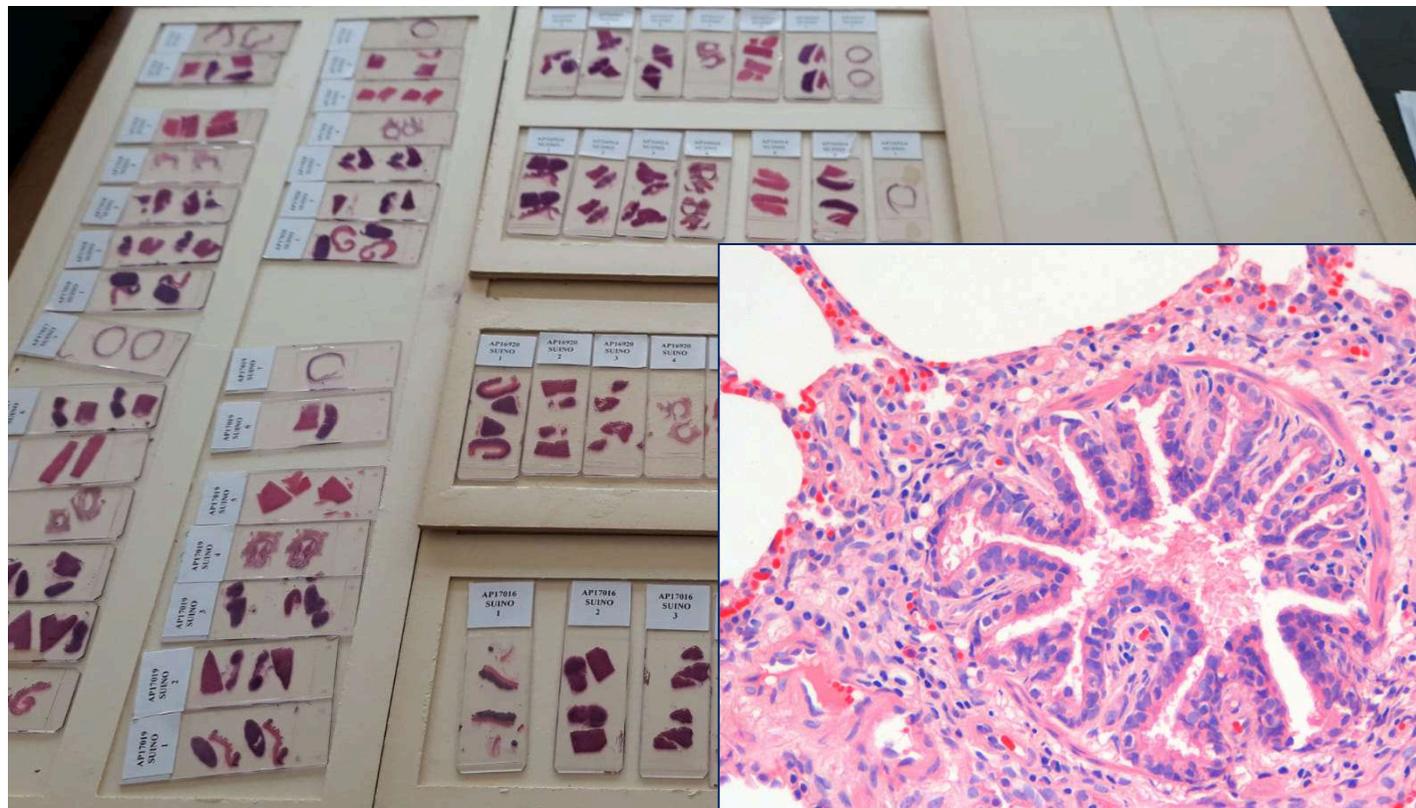


Sicura, contenitore preriempito con f...
diapath.it



CONTENITORI IN SICUREZZA PRIE...
youtube.com

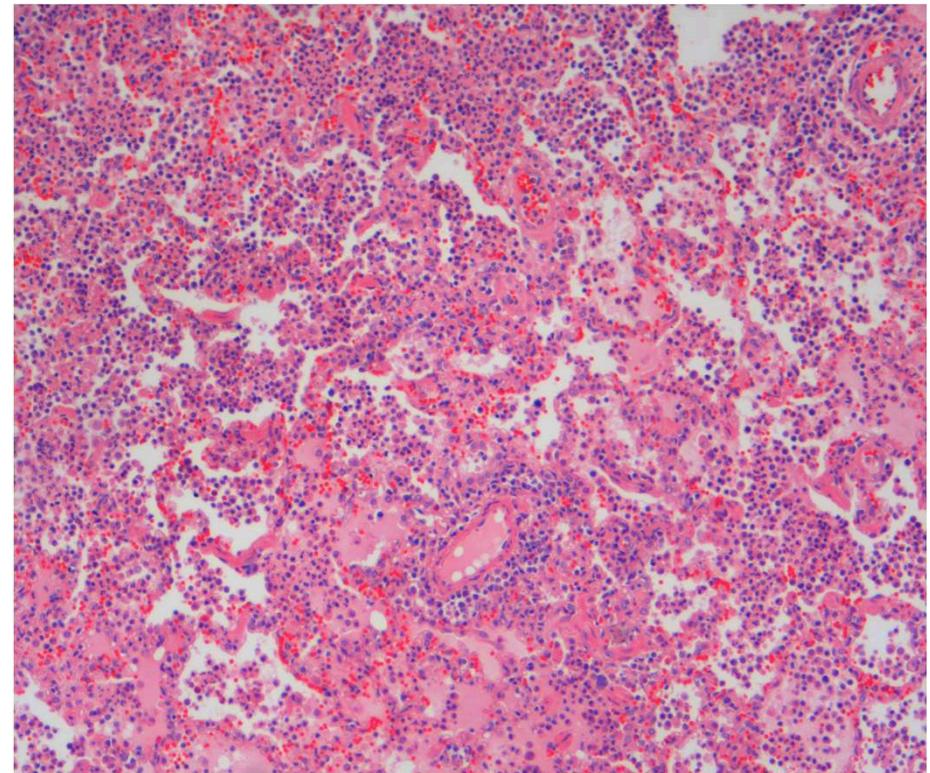
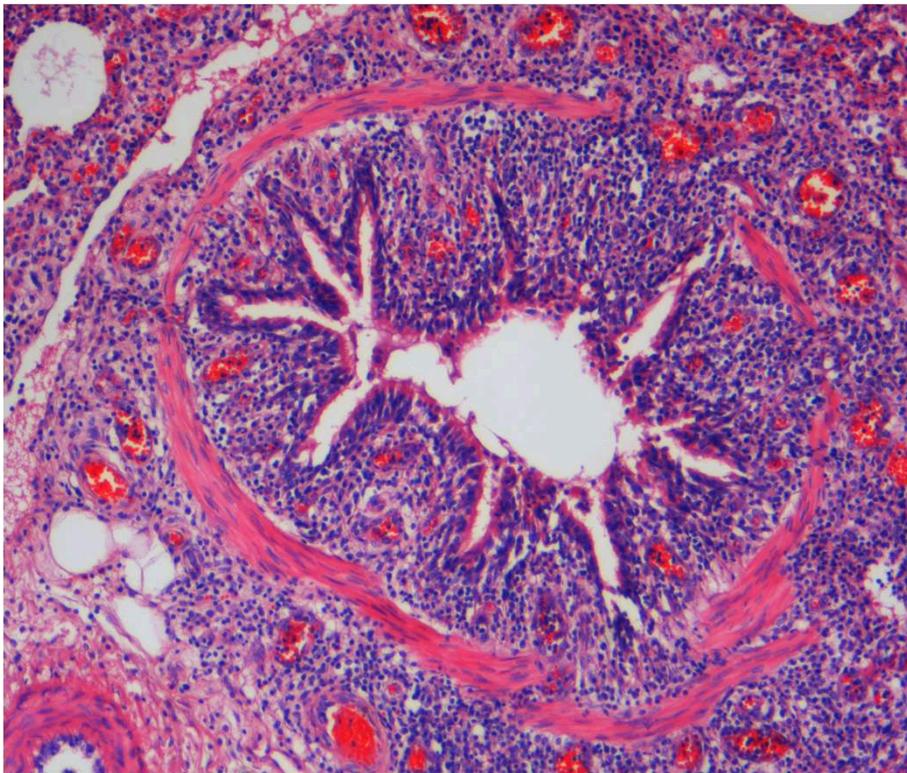
Processazione del campione e allestimento del vetrino per l'istologia

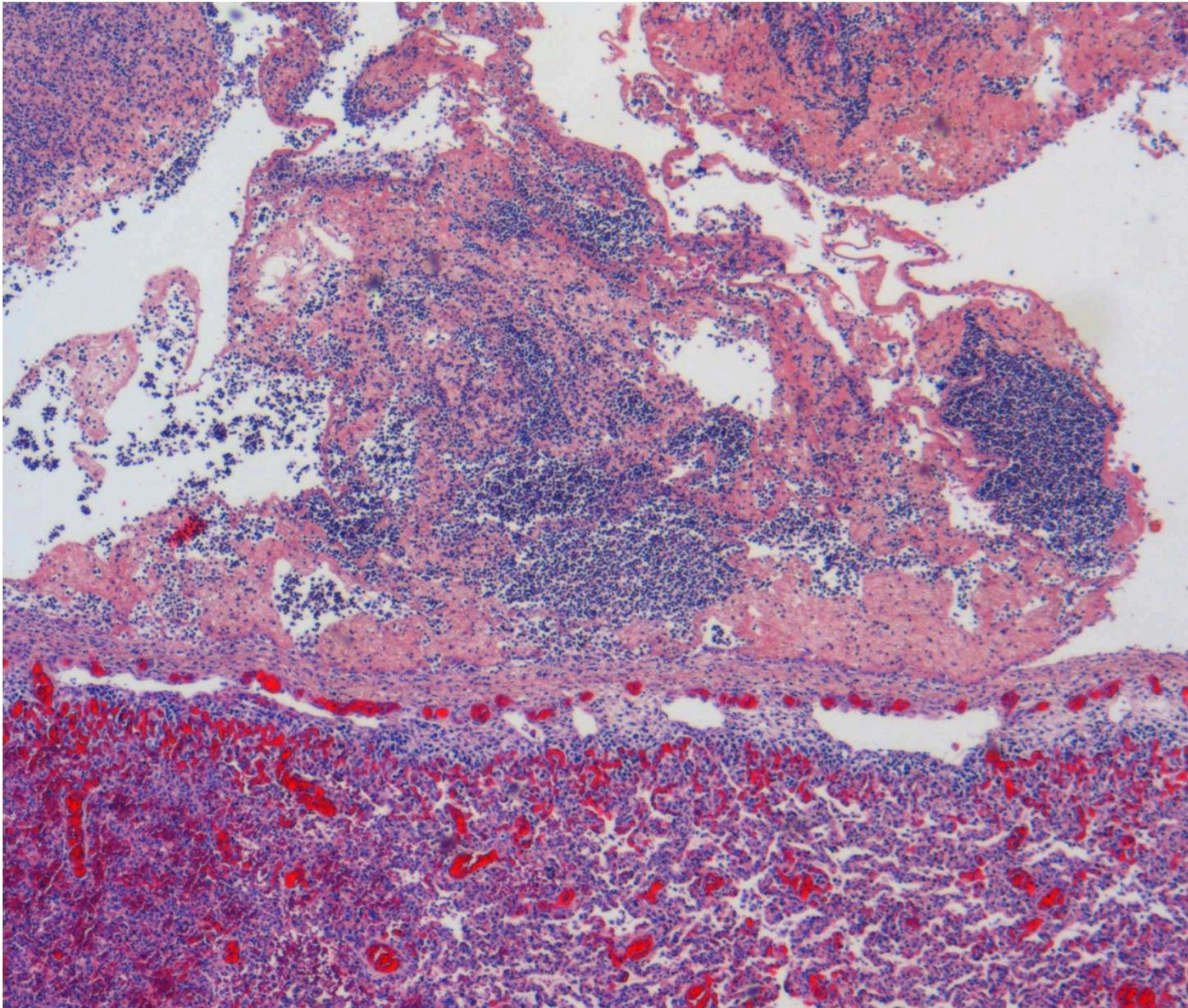


Colorazioni istologiche: EMATOSSILINA – EOSINA

Quali informazioni posso ottenere?

- **Sede** anatomica della lesione





Colorazioni istologiche: EMATOSSILINA – EOSINA

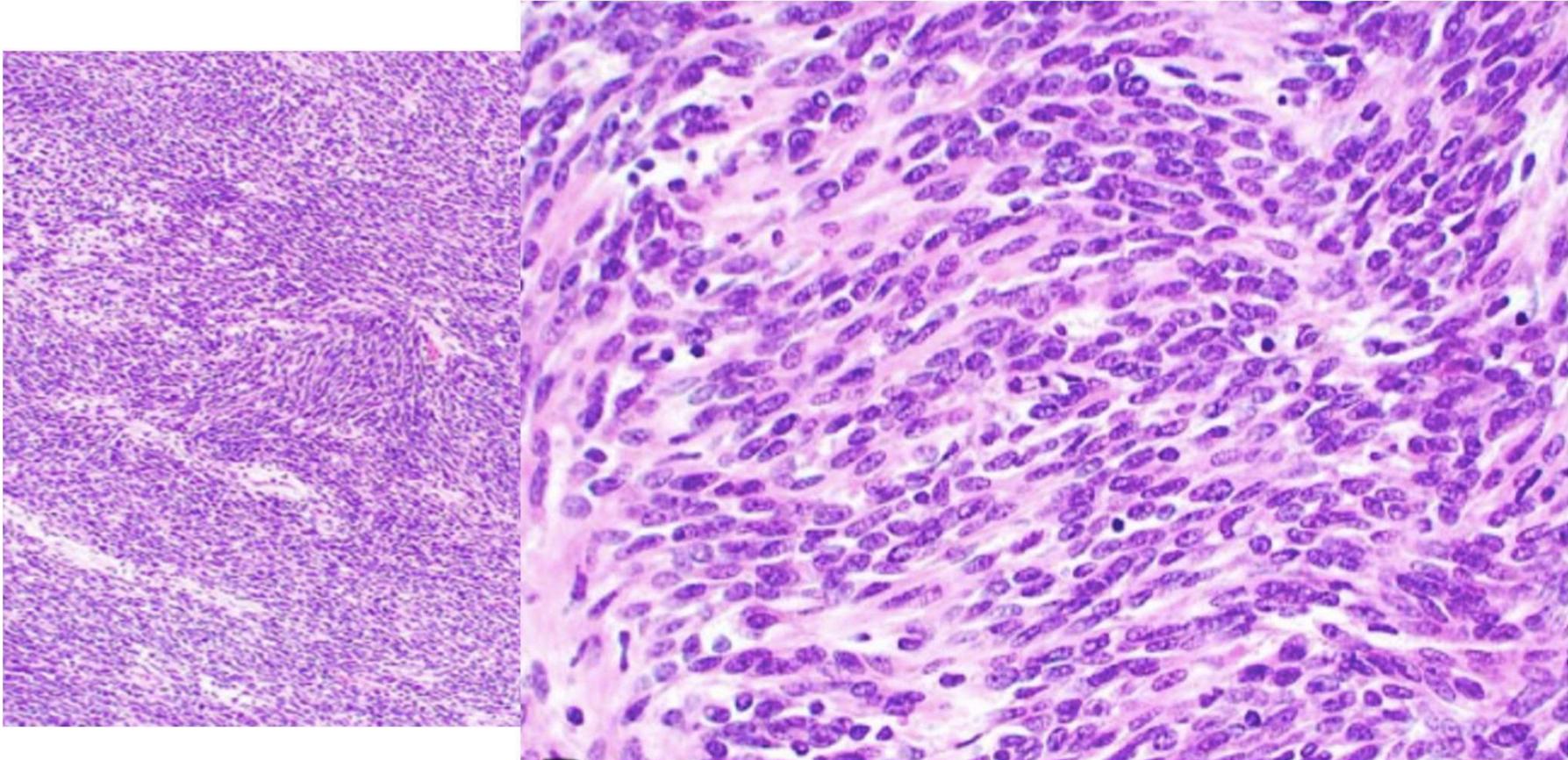
Quali informazioni posso ottenere?

- **Natura** (Es. alterazione dello sviluppo, infiammatoria, degenerativa, iperplastica, neoplastica ecc.)



Colorazioni istologiche: EMATOSSILINA – EOSINA

Quali informazioni posso ottenere?



Stilwell, J. M., & Rissi, D. R. (2019). Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 31(1), 122-127

© 2018



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Colorazioni istologiche: EMATOSSILINA – EOSINA

Quali informazioni posso ottenere?

- **Tipologia** della lesione / **tipo di cellule** coinvolte

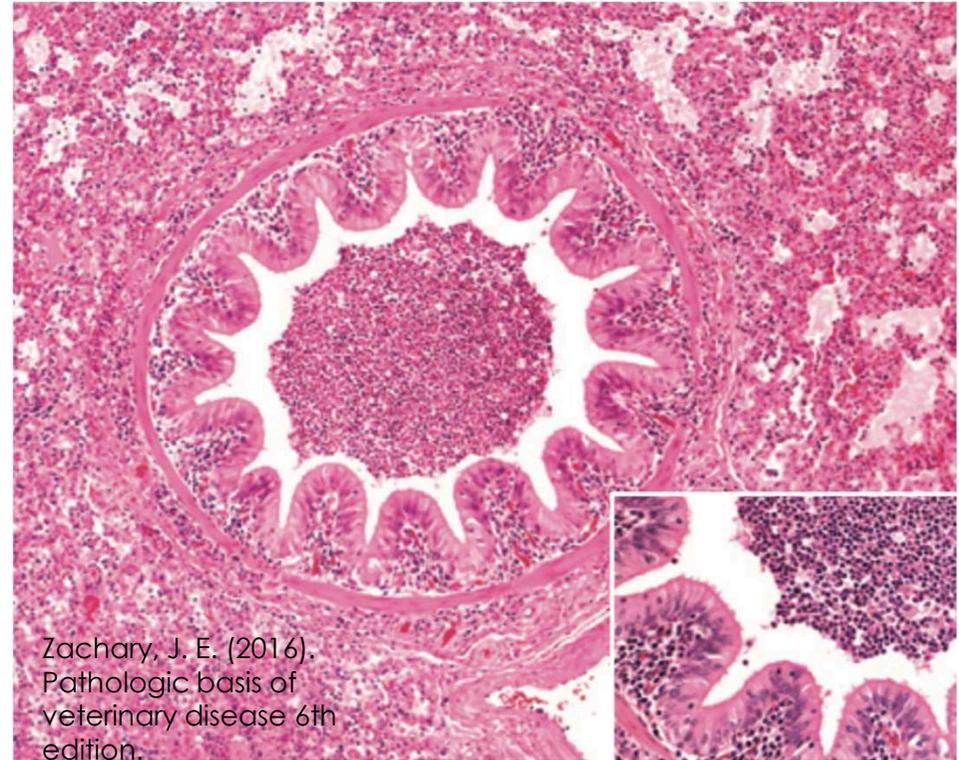
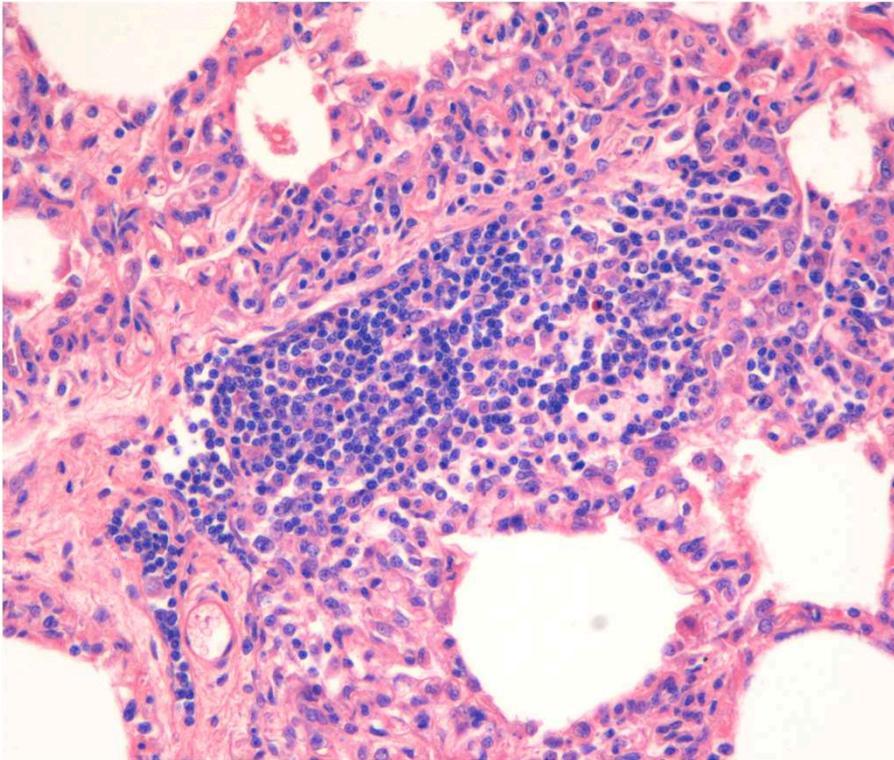
Es. Infiammazione neutrofilica (suppurativa), infiammazione linfoplasmacellulare, infiammazione piogranulomatosa ecc.



Colorazioni istologiche: EMATOSSILINA – EOSINA

Quali informazioni posso ottenere?

- **Tipologia** della lesione / **tipo di cellule** coinvolte



Zachary, J. E. (2016).
Pathologic basis of
veterinary disease 6th
edition.



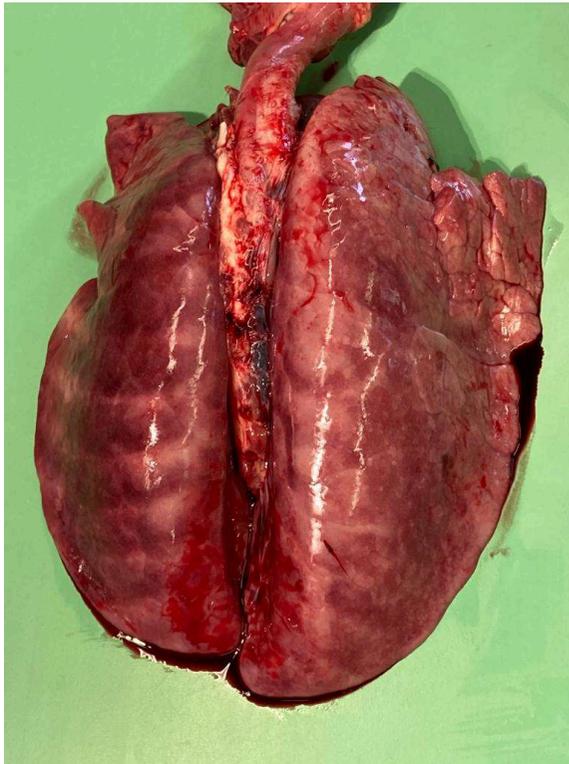
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

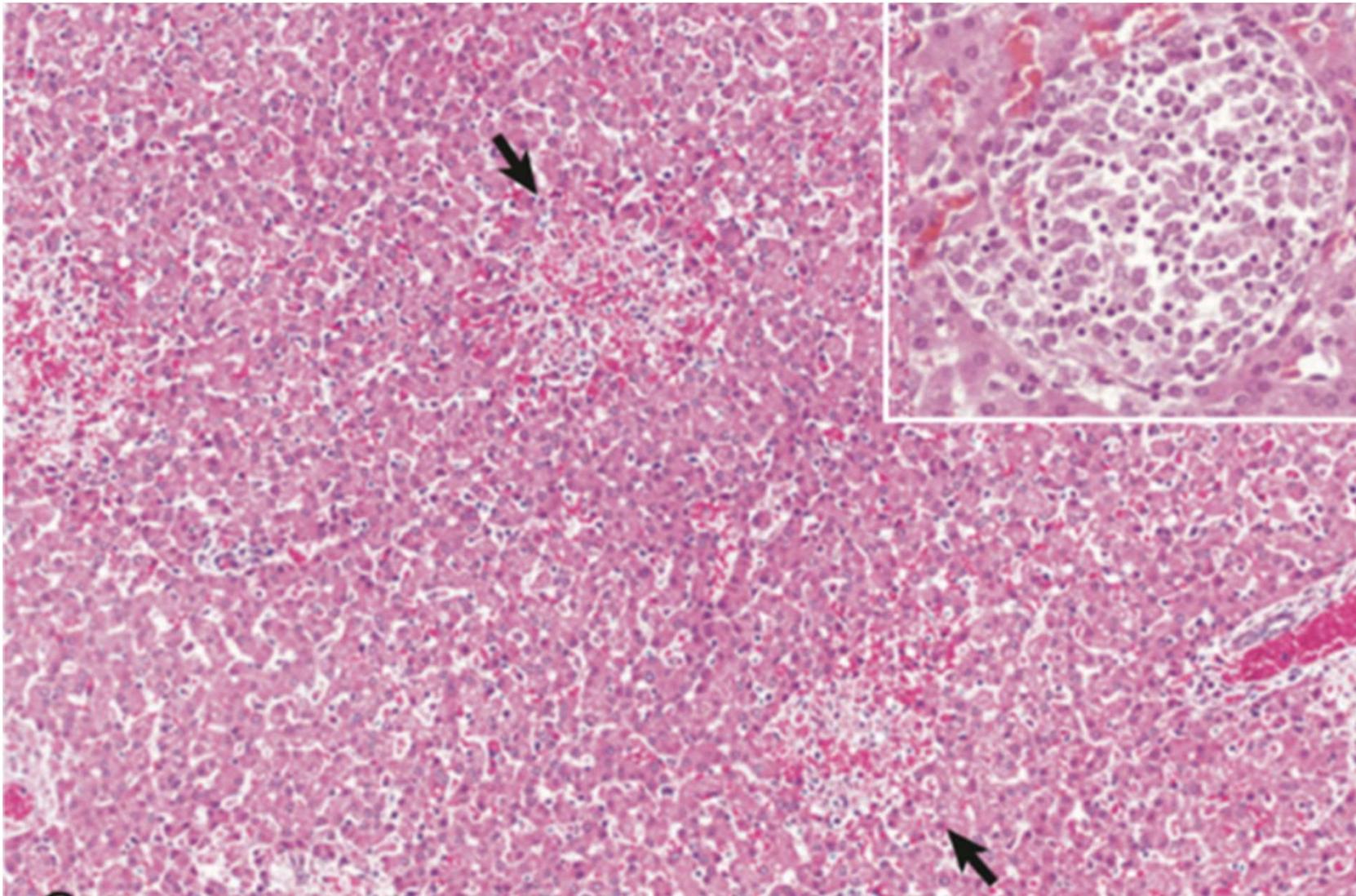
Colorazioni istologiche: EMATOSSILINA – EOSINA

Quali informazioni posso ottenere?

- **Distribuzione** della lesione

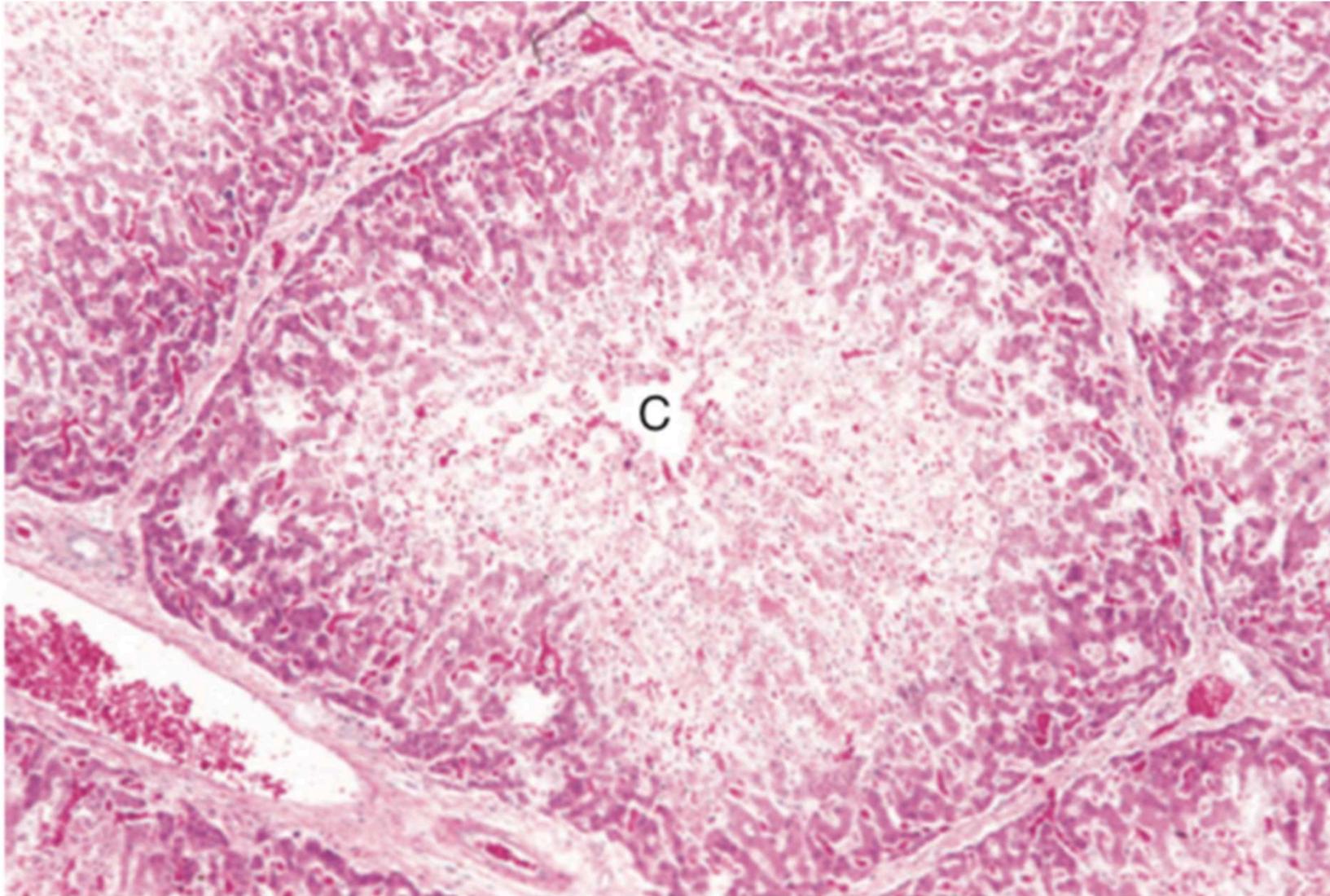
Es. diffusa, disseminata, focale, multifocale, multifocale confluyente





Zachary, J. E. (2016). Pathologic basis of veterinary disease 6th edition.





Zachary, J. E. (2016). Pathologic basis of veterinary disease 6th edition.



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

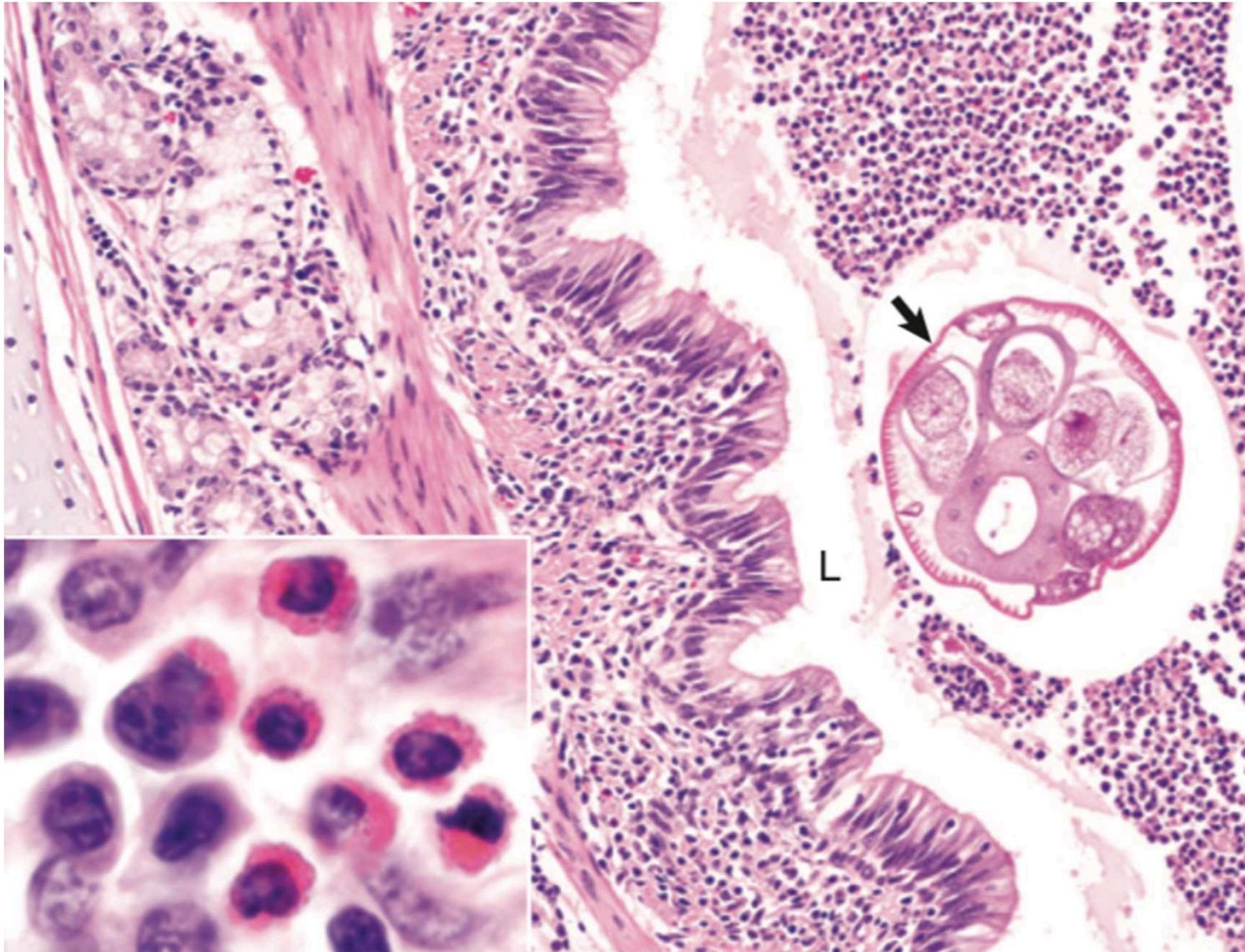
Colorazioni istologiche: EMATOSSILINA – EOSINA

Quali informazioni posso ottenere?

- **Durata** della lesione

Es. Acuta, subacuta, cronica





Zachary, J. E. (2016). Pathologic basis of veterinary disease 6th edition.



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

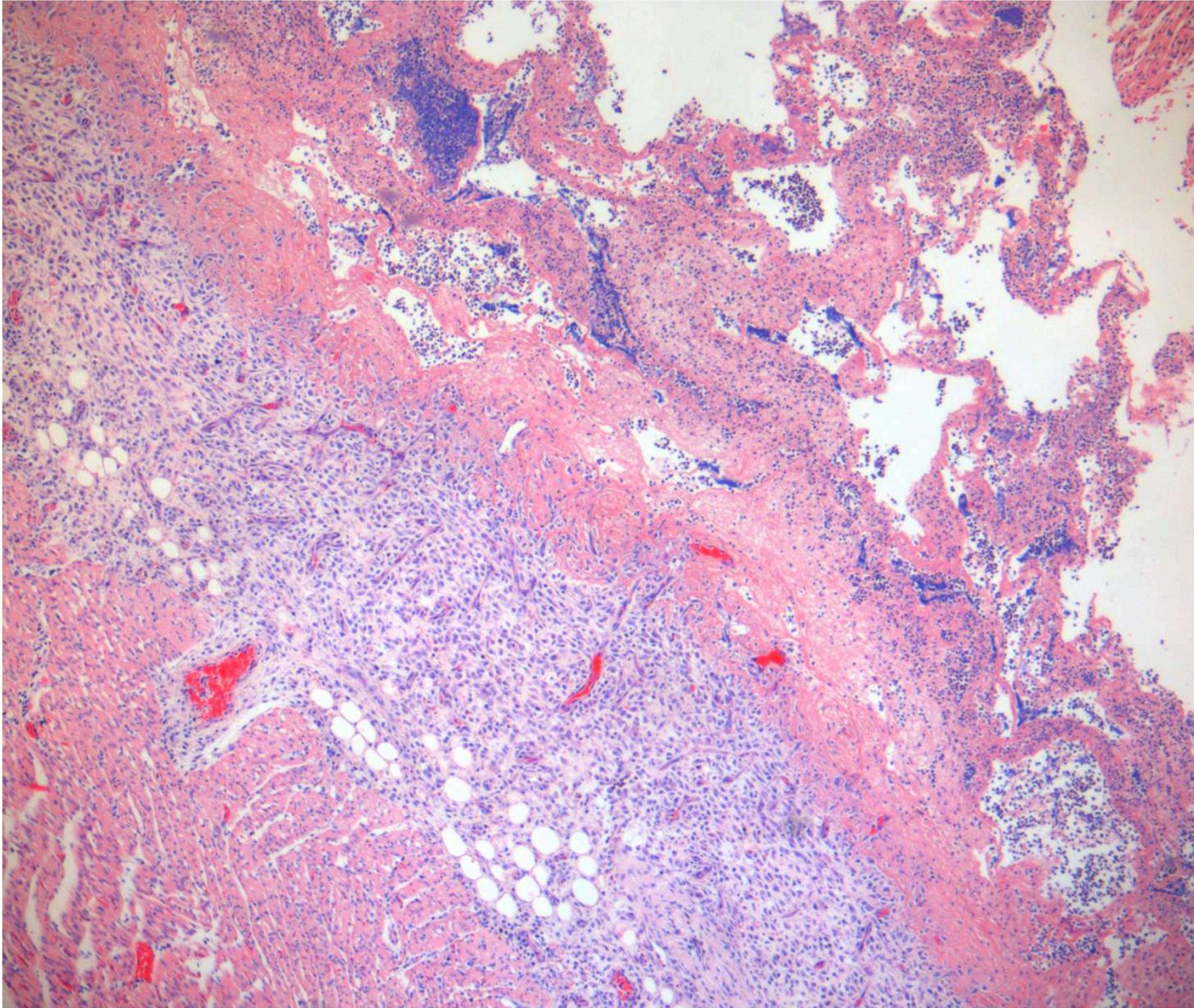
Colorazioni istologiche: EMATOSSILINA – EOSINA

Quali informazioni posso ottenere?

- **Gravità** della lesione

Es. lieve, moderata, grave





Quali informazioni posso ottenere?

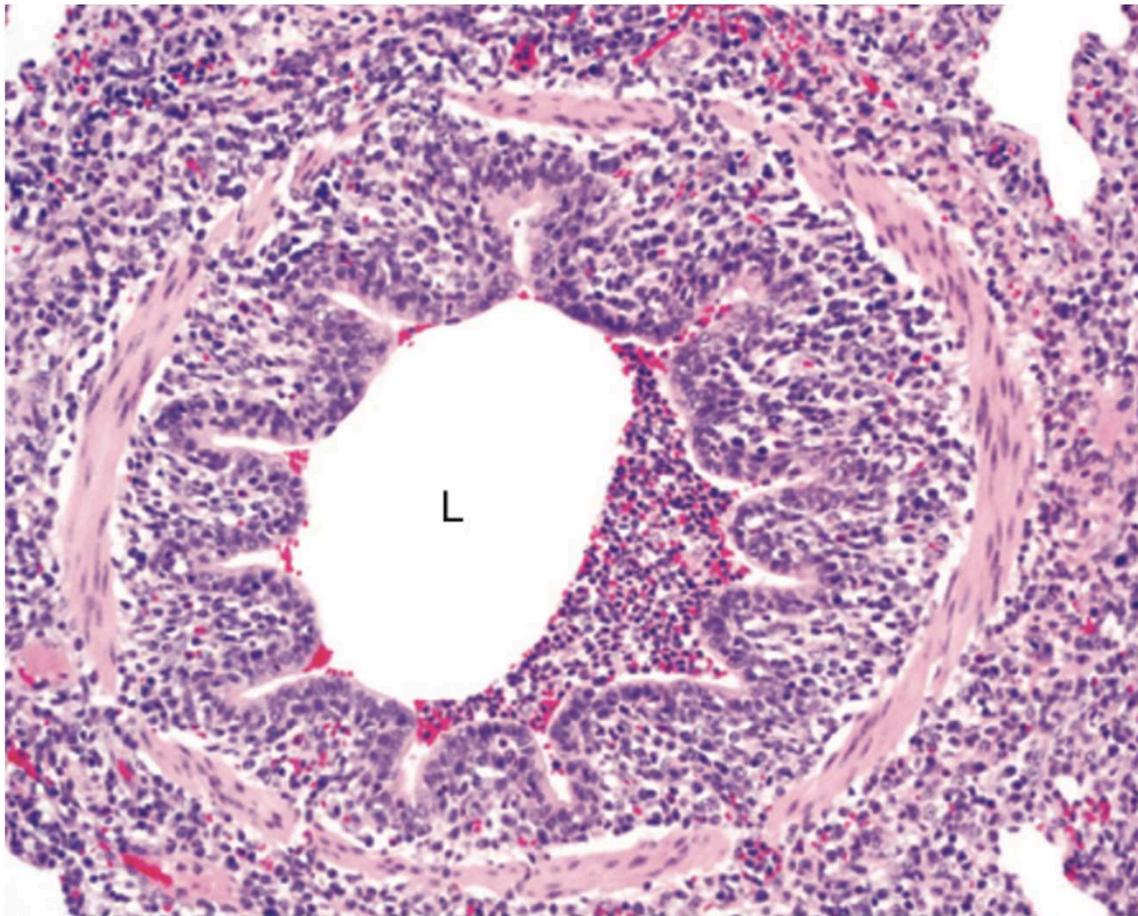
DIAGNOSI MORFOLOGICA

Sede + tipologia + distribuzione + durata + gravità



DIAGNOSI MORFOLOGICA

Es. *Grave bronchiolite e peribronchiolite cronico-attiva
linfoplasmacellulare ed istiocitaria
con accumulo endoluminale di neutrofili*



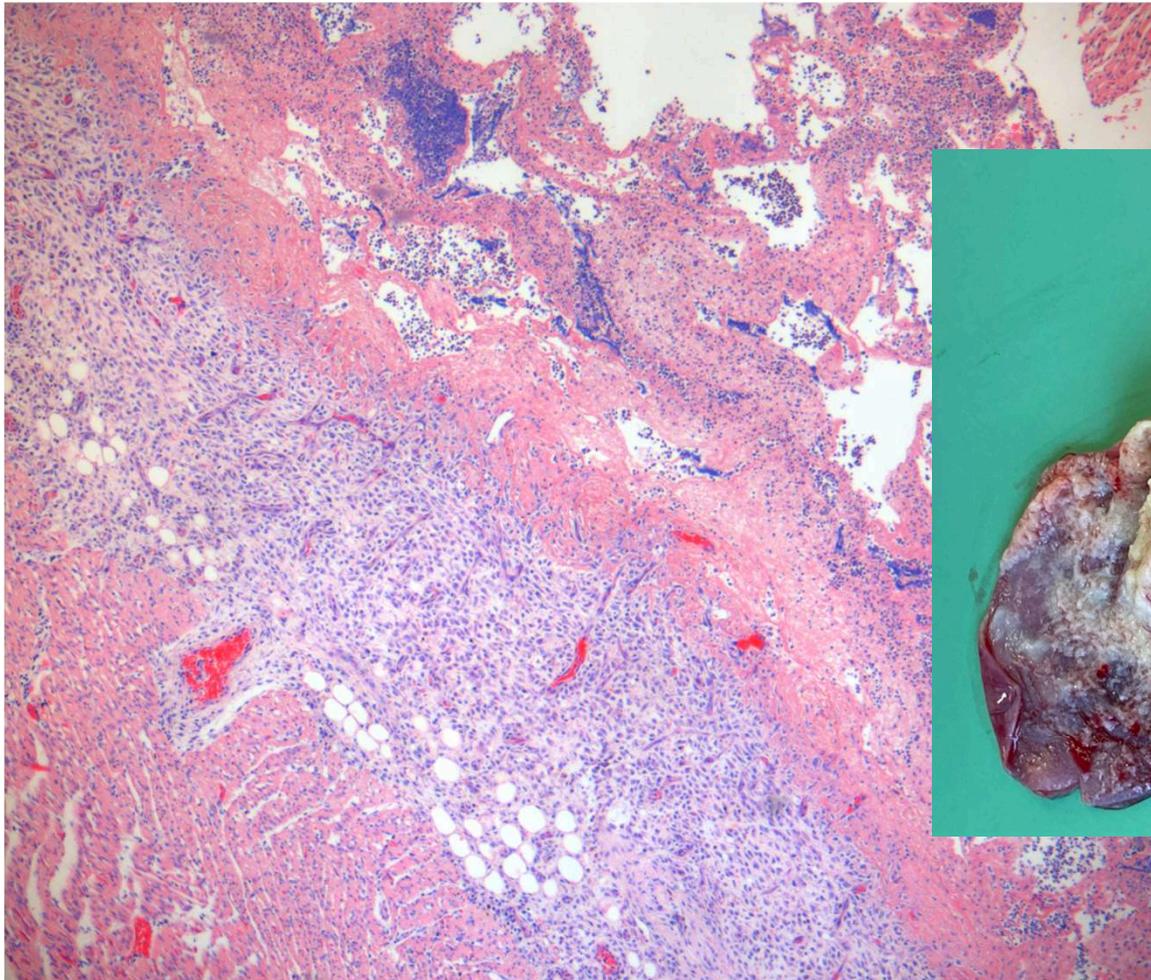
Zachary, J. E. (2016).
Pathologic basis of veterinary
disease 6th edition.



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

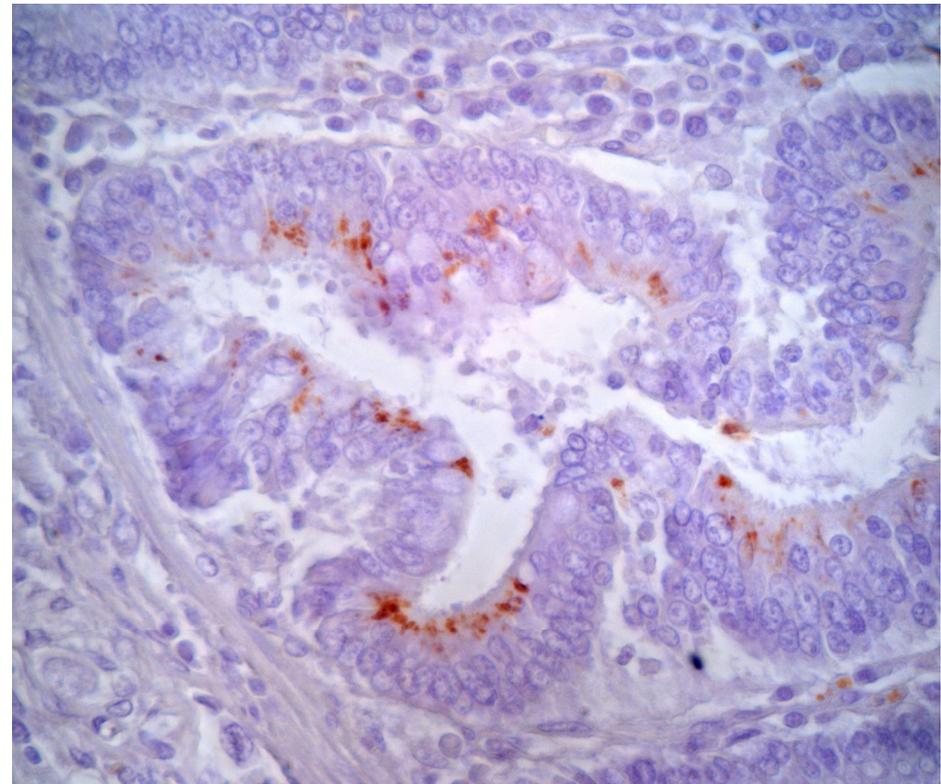
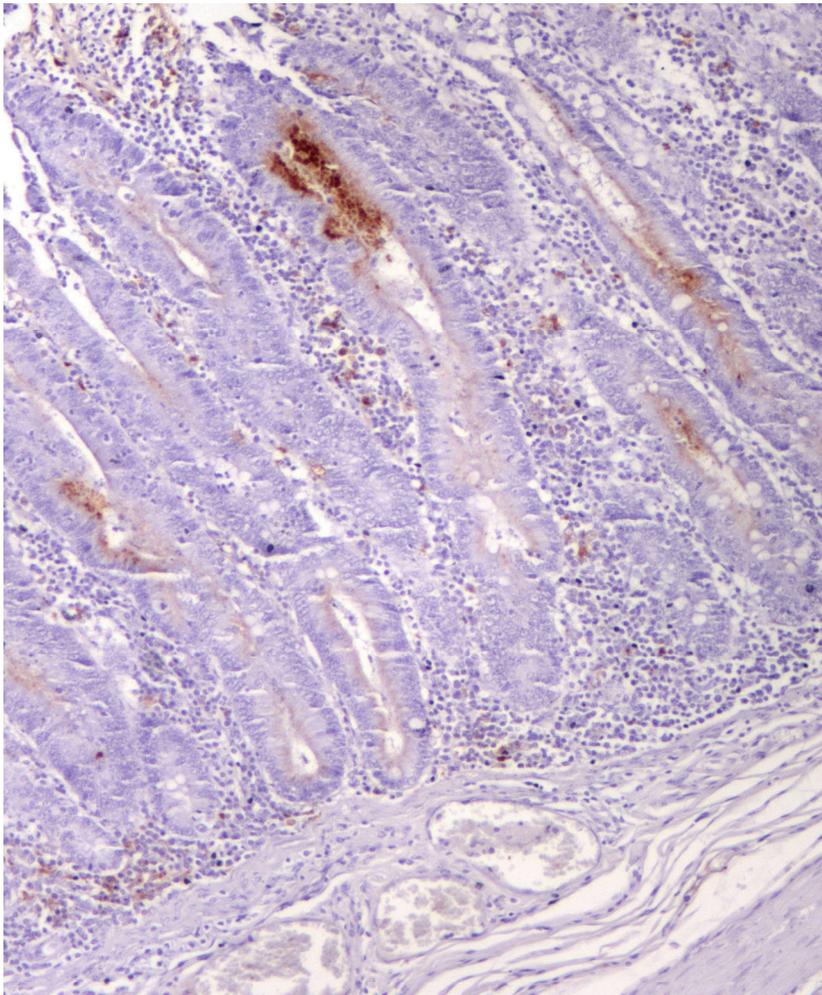
DIAGNOSI MORFOLOGICA

Es. *Grave e diffusa pericardite fibrino-purulenta subacuta*

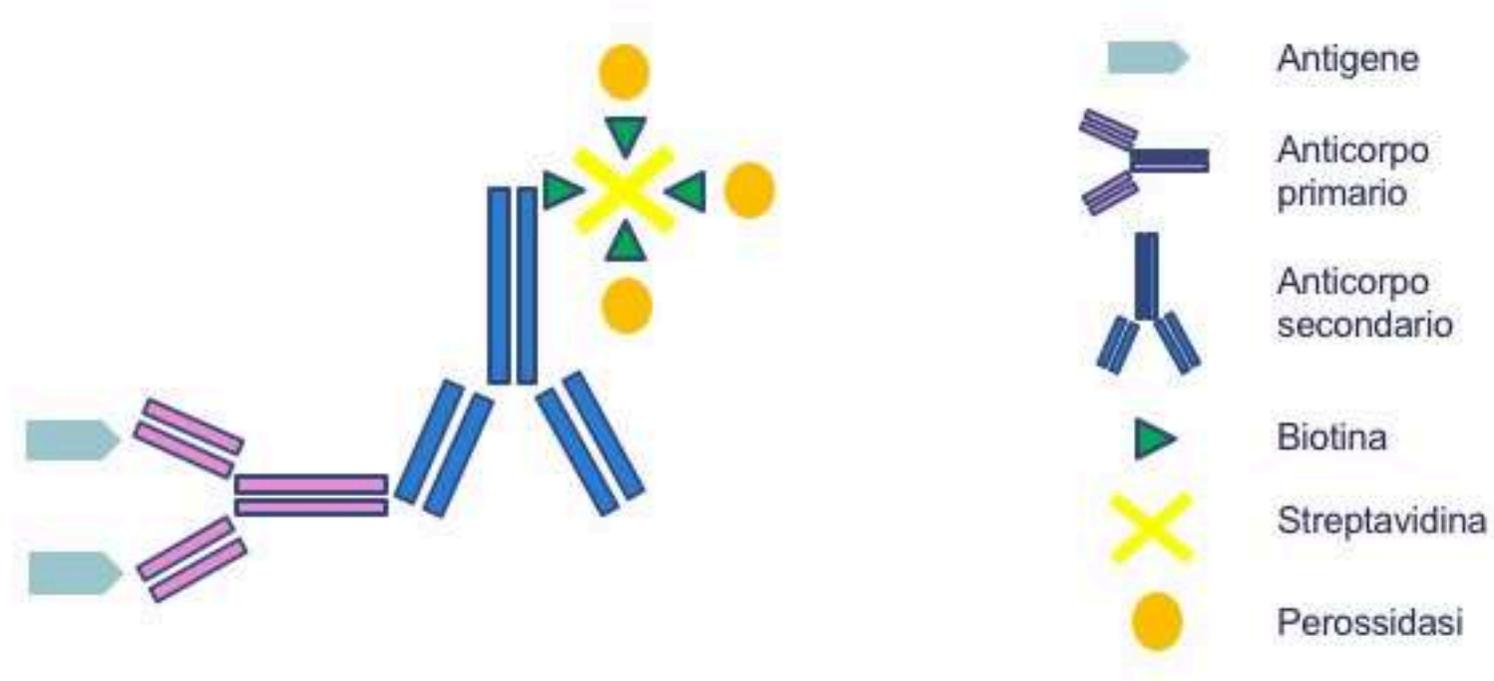


E per una **DIAGNOSI EZIOLOGICA?**

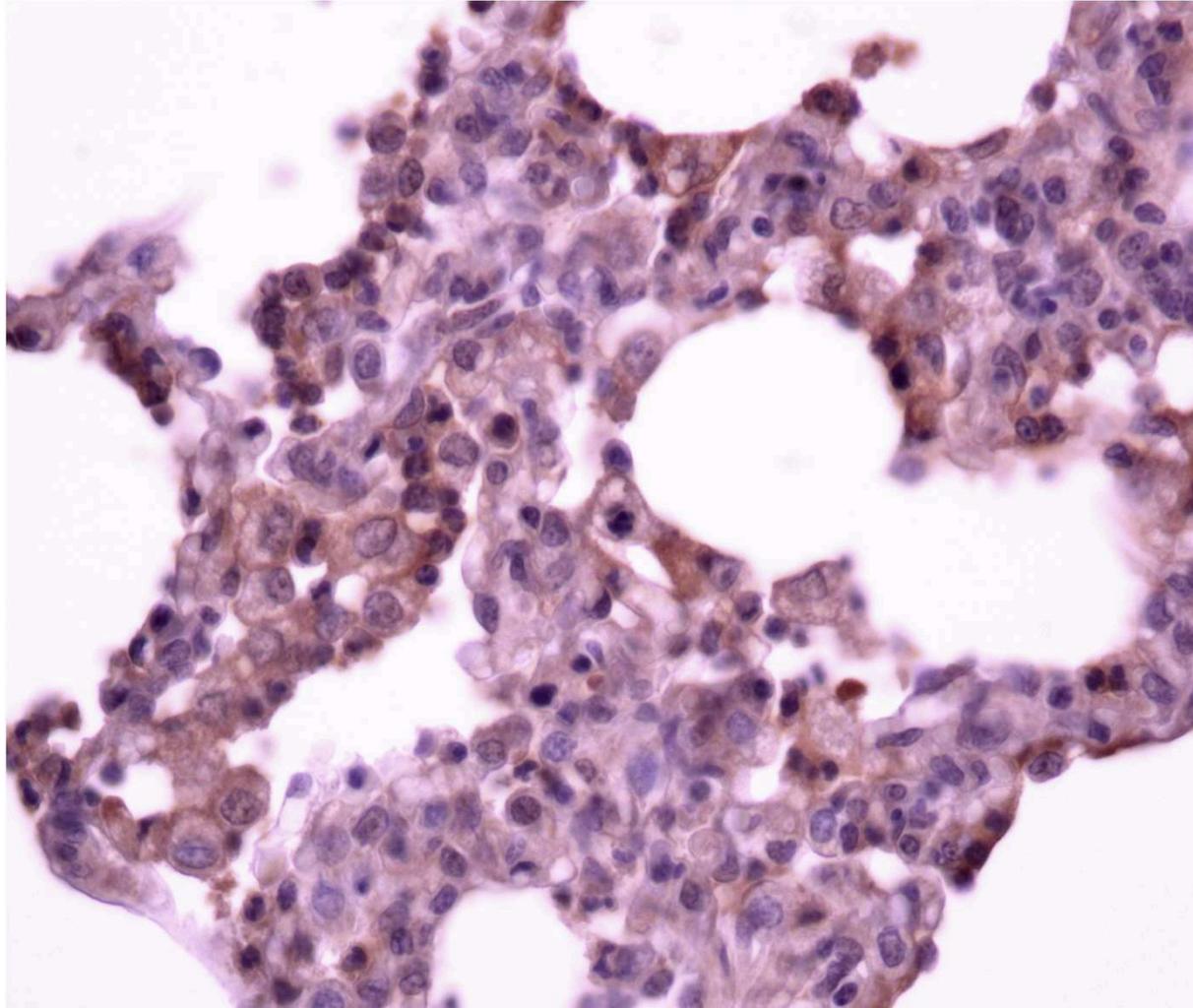
Colorazioni speciali: **IMMUNOISTOCHEMICA (IHC)**



Colorazioni speciali: IMMUNOISTOCHEMICA (IHC)



Colorazioni speciali: IMMUNOISTOCHEMICA (IHC)



Rivelazione degli antigeni microbici nelle lesioni caratteristiche





ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Giulia D'Annunzio, DVM, PhD student

Servizio di Anatomia Patologica - DIMEVET

giulia.dannunzio2@unibo.it

www.unibo.it