

ESAME NECROSCOPICO: INTERPRETIAMO LA PATOLOGIA RESPIRATORIA

NECROPSY: UNDERSTANDING RESPIRATORY PATHOLOGY

SARLI G.

Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna

Parole chiave: suino, necropsopia, polmonite, diffusione aerogena, diffusione ematogena.

Key words: swine, necropsy, pneumonia, aerogenous spread, hematogenous spread.

INTRODUZIONE

Oggi anche in medicina veterinaria le necropsopie, come già da anni avviene in medicina umana, sono svolte prevalentemente in centri dove opera personale specializzato quali, in campo animale, le sezioni diagnostiche degli IZS o i servizi di anatomia patologica dei dipartimenti universitari, in cui sono disponibili strutture adeguate per le precauzioni da adottare nel corso dell'indagine, inclusa la disponibilità del necessario *know-how* per le opportune deduzioni nonché dei percorsi per i successivi approfondimenti di laboratorio, non solo di tipo istopatologico.

Il veterinario libero professionista percorre in genere 2 strade di impiego dell'indagine necropsopica per finalità diagnostiche.

1. Fare pervenire il soggetto o i soggetti presso un centro competente. In questo caso il limite maggiore che si pone è il trasporto di soggetti morti (soprattutto se animali a fine ciclo o riproduttori).
2. Prelevare in sede il campione da conferire. Questa che può sembrare la via più semplice invece riassume la criticità del prelievo che può non essere adeguato per le necessità diagnostiche. E' proprio in funzione di questa criticità che il prelievo, in azienda, di organi o loro parti non dovrebbe essere visto come un semplice passaggio di matrici verso i laboratori specialistici, ma come la continuazione di un percorso diagnostico che partendo dall'anamnesi e dalla sintomatologia va verso i laboratori specialistici passando proprio attraverso la necropsopia che, quindi, è una tappa importante dell'iter diagnostico.

Tra i veterinari liberi professionisti, il suiatra è un professionista che ricorre spesso all'esame necropsopico per finalità diagnostiche. La necropsopia è quindi, in suinocoltura, una tappa importante dell'iter diagnostico e va affrontata con un giusto equilibrio tra competenza e professionalità sia nella tecnica che nell'interpretazione. La competenza inizia con l'individuazione, tra più soggetti morti, di quelli da preferire per la necropsopia: quelli in cui il processo patologico si consideri conclamato, quelli morti più di recente. La condizione migliore sarebbe quella di potere sopprimere animali con sintomatologia conclamata e procedere immediatamente con la necropsopia.

Tecnica

Va tenuto presente uno strumentario minimo da avere sempre in dotazione rappresentato in forma essenziale da un coltello, un costotomo ed una sega, meglio se accompagnati da forbici, pinze chirurgiche, bisturi, specilli. E' importante avere in disponibilità un pennarello indelebile e contenitori (vasetti, sacchetti) e tamponi sterili per i prelievi con finalità diagnostiche dirette (virologiche, batteriologiche e parassitologiche) mentre, se si vuole procedere

con il prelievo per l'esame istologico si può scegliere se prelevare l'organo in toto o solo le parti interessate dal processo patologico. Si vedano in seguito le indicazioni per la fissazione. E' sempre necessario disporre di un contenitore refrigerato (da impiegare per collocare sia i campioni per la diagnosi diretta che i tessuti non fissati per l'esame istologico) da usare sempre, anche quando i tempi di consegna al laboratorio sono relativamente brevi (1-2 ore). Non è invece indispensabile tenere refrigerati i tessuti immersi in liquido fissativo (anche se la precauzione di non esporli a temperature estreme è sempre da osservare).

Scuociamento ed apertura delle cavità

Esistono diverse tecniche con posizionamento dell'animale prono e legato su un tavolo anatomico o appeso con entrambi gli arti posteriori che però non sono agevolmente utilizzabili in condizioni di campo. La condizione più favorevole, laddove non si dispone di tavoli anatomici attrezzati, è quella di seguire le indicazioni di Guillamon e Jalon ("Guida alla diagnosi necroscopica in patologia suina", <http://www.fondiz.it/pdf/56.pdf>).

Interpretazione

Può risultare dispersivo in questa sede affrontare la discussione sull'interpretazione di quadri anatomopatologici riscontrabili nei diversi sistemi ed organi, pertanto cercherò di focalizzare l'attenzione sulla patologia respiratoria che, insieme a quella gastroenterica, rappresenta la maggior parte dei quadri anatomopatologici osservabili nella specie.

Primo punto: cosa osservo?

Nel suino, quadri di patologia respiratoria possono essere ascritti a 3 evenienze: riniti, polmoniti, pleuriti, che possono presentarsi come eventi separati o in associazione. I patogeni responsabili di quadri patologici nelle vie respiratorie e nel polmone raggiungono le prime quasi esclusivamente per via aerogena (un esempio classico sono le riniti negli animali giovani e la ben nota rinite atrofica), mentre il polmone può essere raggiunto sia per via aerogena, come estensione da un primitivo interessamento delle vie aeree, ma anche per via ematogena. **Nel polmone, il coinvolgimento per via aerogena o ematogena condiziona quadri di patologia diversi per tipologia e per localizzazione.**

L'arrivo di patogeni per **via aerogena** induce quadri di polmonite localizzati nelle parti cranioventrali, di cui esempio tipico sono la polmonite enzootica, e le broncopolmoniti in genere. In questi casi si osservano quasi sempre i seguenti caratteri macroscopici:

- Variazione della consistenza (sembra di palpare del fegato = epatizzazione, nella fase acuta, mentre sembra di palpare del muscolo = carnificazione, nella fase cronica).
- Variazione del colore: rosso scuro tipicamente nelle aree epatizzate, mentre un colore più grigiastro/biancastro nelle forme croniche. La variazione cromatica può essere anche accentuata da edema infiammatorio (fasi acute) del connettivo perilobulare e da ispessimento fibroso (fasi croniche) dello stesso.
- Presenza di essudato nelle vie aeree, da catarrale scarso e denso (nella polmonite enzootica) a più abbondante e con carattere anche simile a pus nelle polmoniti enzootiche complicate o nelle broncopolmoniti.
- Ispessimento murale biancastro delle piccole vie aeree (c.d. polmonite a manicotto) tipica delle infezioni da *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Quindi, nelle **patologie polmonari infiammatorie aerogene**, i caratteri macroscopici salienti sono la localizzazione (cranioventrale) con variazione di consistenza (da epatizzazione a carnificazione), colore (da rosso a grigio-biancastro) e coinvolgimento delle vie aeree (bronchite catarrale o catarral-purulenta). Il **quadro macroscopico depone quindi per una broncopolmonite**. Gli agenti eziologici responsabili di questi processi patologici sono

ascrivibili a virus respiratori (es. SuHV-1, virus influenzali) o a *Mycoplasma hyopneumoniae* spesso con complicazioni batteriche secondarie, il tutto oggi indicato come *porcine respiratory diseases complex* (PRDC).

Si colloca in questo gruppo anche la pleuropolmonite da *A. pleuropneumoniae* ma con alcune differenze.

- I focolai (spesso anche solo uno) sono craniali ma non necessariamente ventrali.
- La consistenza è sempre “epatica” ma cronicizzando tendono ad evolvere in sequestri o in ascessi.
- Una pleurite fibrinosa focale sovrasta il focolaio di polmonite (la contemporanea presenza di un focolaio di consolidamento (epatizzazione) polmonare abbinata a pleurite fibrinosa della pleura che ricopre il focolaio di polmonite caratterizza macroscopicamente le polmoniti fibrinose).
- In sezione non si apprezza costantemente un coinvolgimento delle vie aeree, se non in casi complicati da altri batteri.

L’arrivo di patogeni per **via ematogena** comporta una localizzazione diversa del processo patologico: sono coinvolte prevalentemente le aree dorsali dei lobi basilari. Si possono verificare due evenienze.

- L’arrivo di tromboemboli settici partiti da processi settici localizzati altrove, che, laddove nel polmone si arresteranno, possono generare la formazione di ascessi (polmonite apostematosa embolica). Il carattere macroscopico saliente in questi casi è la presenza di uno o più ascessi localizzati nelle parti dorsali del polmone. Appartengono a questa tipologia di lesioni (multifocali e circoscritte) anche quelle granulomatose tubercolari che si manifestano con nodosità multiple prevalentemente dorsali.
- L’arrivo di agenti pneumotropi o endoteliotropi al polmone attraverso il circolo ematico, con genesi di una polmonite interstiziale (è questo il caso nelle polmoniti da PRRSV, da PCV2, nella migrazione massiva di ascaridi o delle setticemie da batteri gram negativi).

I caratteri macroscopici in questi casi sono diversi da quelli delle forme aerogene.

- L’aumento di consistenza è più contenuto; i termini che si usano per definirla sono “cotonoso” o “gommapiuma”.
- Moderato aumento di volume con impronte delle costole.
- Il colore va dal rosso delle forme acute al pallido biancastro a margini sfumati delle forme croniche.
- Le vie aeree non mostrano interessamento.

Nelle **patologie polmonari infiammatorie ematogene**, escludendo le polmoniti apostematose emboliche, i caratteri macroscopici salienti (lesione diffusa, prevalentemente localizzata nelle parti dorsali dei lobi basilari, moderato aumento di volume e consistenza “cotonosa” o “gommapiuma”, colore più chiaro ed assenza di coinvolgimento delle vie aeree) depongono per una **polmonite interstiziale**.

Va ricordato che appartiene a questo gruppo di patologia (polmonite interstiziale) anche la lesione indotta dai virus influenzali (bronchiolite e alveolite acute necrotizzanti); in questo caso però, la patogenesi è aerogena e le lesioni sono prevalentemente cranioventrali. Inoltre non è facile osservare quadri caratterizzati dal solo contributo virale senza complicazione batterica secondaria, pertanto quello che nella maggior parte dei casi si osserva è una polmonite cranioventrale aerogena con i caratteri, già delineati, di broncopolmonite.

Ulteriore eccezione va menzionata per la patologia polmonare da strongili (*Metastrongylus*)

in cui le larve arrivano per via ematogena e linfogenica, gli adulti si localizzeranno nei piccoli bronchi delle zone più aeree (quelle dorsali) del polmone causando una bronchite catarral-purulenta a cui possono contribuire anche complicanze batteriche, che possono dare origine a focolai lobulari di broncopolmonite non localizzati però nelle parti cranioventrali (tipicamente vi sono focolai lobulari di broncopolmonite dorsali o sui margini dei lobi basilari). Le lesioni comunque sono più complesse poiché sostenute anche da flogosi interstiziale e granulomatosa verso i parassiti e sono associate a focolai di enfisema o di atelettasia a seconda che la presenza di essudato e parassiti nelle piccole vie aeree causi rispettivamente ostruzione o occlusione.

Le pleuriti possono essere associate a patologie polmonari (un classico esempio si ha nella pleuropolmonite da *A. pleuropneumoniae*), ma nel suino spesso la patologia flogistica pleurica (pleuriti acute sierofibrinose che cronicizzando diventano fibrose) può non concomitare con polmoniti, ma con altre sierositi (pericardite, peritonite) e artriti in quadri quindi di patologia sistemica e non confinata solo all'apparato respiratorio e sostenuti eziologicamente da *H. parasuis*, *S. suis*, *M. hyorinis*, *Actinobacillus spp.*

Secondo punto: come interpreto?

Patologie flogistiche polmonari a patogenesi aerogena hanno spesso solo nel polmone la manifestazione di patologia e il risentimento generale è condizionato dall'insufficienza respiratoria che ne consegue. Quindi in tali casi il prelievo del polmone (per indagini eziologiche o istologiche) rappresenta il target indispensabile e sufficiente.

Patologie flogistiche polmonari a patogenesi ematogena hanno nel polmone l'estensione di un processo localizzato in altri organi che, spesso, sono più indicati da prelevare per ottenere le indicazioni diagnostiche necessarie. In tali casi quindi l'attenzione va concentrata sul polmone ma anche su organi linfoidi (PCV2, PRRS), processi settici extrapolmonari a diversa localizzazione che, in aggiunta ai risultati ottenuti dal prelievo del polmone, hanno maggiore valenza nel fornire, soprattutto, le indicazioni eziologiche.

L'interpretazione quindi nel primo caso è: patologia confinata al polmone mentre nel secondo: coinvolgimento polmonare in corso di malattia sistemica.

Terzo punto: cosa e come devo prelevare?

La risposta al secondo quesito genera chiarezza su questo terzo punto. Nelle patologie a patogenesi aerogena il prelievo del polmone e dei linfonodi mediastinici rappresenta il target sufficiente, mentre nelle patologie polmonari a patogenesi ematogena il prelievo del polmone deve essere affiancato a quello di organi che sono i veri target che renderanno sufficiente il prelievo ai fini della diagnosi eziologica. In questi casi quindi il polmone è da vedere come un target non sempre sufficiente.

Una volta individuato cosa campionare si procederà con i prelievi per le diverse indagini da richiedere. In merito al prelievo per l'esame istologico, se non si decide di mandare tutto l'organo (refrigerato) al laboratorio competente, esso deve essere seguito da **rapida fissazione in adeguato liquido**. Il fissativo più usato in istologia è la formalina in soluzione d'uso al 4%, meglio se con aggiunta di tampone fosfato (c.d. formalina tamponata, disponibile in commercio). Va però ricordato che con il regolamento UE n.895 del 14/08/2014 e normative collegate la formalina da "cancerogeno presunto" è stato definito "cancerogeno certo" e, in Italia, dal 1/01/2016 la formalina è di fatto inclusa nell'elenco delle sostanze cancerogene, pertanto vi sono precauzioni nell'impiego che ne prevederebbero l'uso sempre sotto cappa aspirante. Quindi può risultare pericoloso, oltre che non consentito, disporre in campo di fissativi a base di formalina. Per ovviare questo inconveniente si possono usare fissativi a

base di alcool disponibili in commercio (Accustain della Sigma-Aldrich; Cell-Block della Bio-Optica) oppure semplicemente diluendo al 50%-70% l'alcool etilico del commercio.

Va però ricordato che fissativi diversi dalla formalina, seppure non modificano l'aspetto morfologico dei tessuti nel confronto con la formalina, possono modificare l'assetto antigenico dei tessuti o del loro contenuto inficiando altre indagini (per esempio l'immunoistochimica) che è spesso abbinata ad indagini istologiche per finalità sia diagnostiche che di ricerca. Pertanto è consigliabile interfacciarsi con il laboratorio per sapere quale fissativo usare e, nella necessità di dovere inviare materiale fresco, organizzarsi per refrigerarlo e consegnarlo nel più breve tempo possibile.

Se non si invia l'organo intero cosa bisogna prelevare? Per l'esame istologico le lesioni non vanno mai prelevate nelle parti centrali, poiché spesso racchiudono una lesione complicata o necrotica, mentre più indicative sono le parti periferiche della lesione, al limite con il parenchima circostante normale, che permettono di individuare il processo patologico al suo esordio (parte più periferica della lesione) e la sua evoluzione (progredendo nell'osservazione verso le parti più centrali). Quindi se le lesioni sono piccole (1-2 cm) si possono prelevare anche interamente, se sono più grandi è bene prelevare al margine con il tessuto circostante normale. La dimensione del tessuto prelevato è importante: i frammenti non dovrebbero essere spessi più di 1 cm per permettere una rapida fissazione del tessuto anche nelle parti profonde, che altrimenti risulterebbero tardivamente fissate e soggette a fenomeni autolitici che comunque si realizzano anche in caso di fissazione ritardata: pertanto **ricordare sempre di fissare subito e pezzi piccoli**. Una precauzione importante nel prelevare parti di polmone è quella di usare un coltello ben affilato. Infatti, la compressione eccessiva generata dall'uso di uno strumento non perfettamente funzionante può, in un organo pieno d'aria come il polmone, generare facilmente artefatti da prelievo.

Sicuramente le indicazioni eziologiche risultano prevalentemente dalle indagini dirette (batterologiche, virologiche, parassitologiche) ma non va sottovalutato il contributo che l'esame istologico può fornire anche in questo senso. Sono oggi comunemente applicate nei laboratori diagnostici indagini immunoistochimiche o di ibridazione *in situ* dove, con l'uso di anticorpi o di sonde specifiche per un determinato agente eziologico, se ne può mettere in evidenza la presenza nei tessuti e nelle lesioni. I vantaggi sono innumerevoli in quelle condizioni in cui la diagnosi di malattia (per esempio nelle *porcine circovirus diseases* -PCVDs, di cui un processo patologico noto è proprio il coinvolgimento di PCV2 nel *porcine respiratory disease complex*) prescinde dalla dimostrazione contestuale di processo patologico (polmonite interstiziale) e dell'agente eziologico (immunoistochimica o ibridazione *in situ* positiva rispettivamente per la presenza di proteine capsomeriche o di acido nucleico di PCV2).

BIBLIOGRAFIA

- Zimmerman JJ et al., Diseases of swine, Wiley-Blackwell, 10th Edition, 2012.
- Marcato PS, Patologia sistematica veterinaria, Edagricole, 2015