



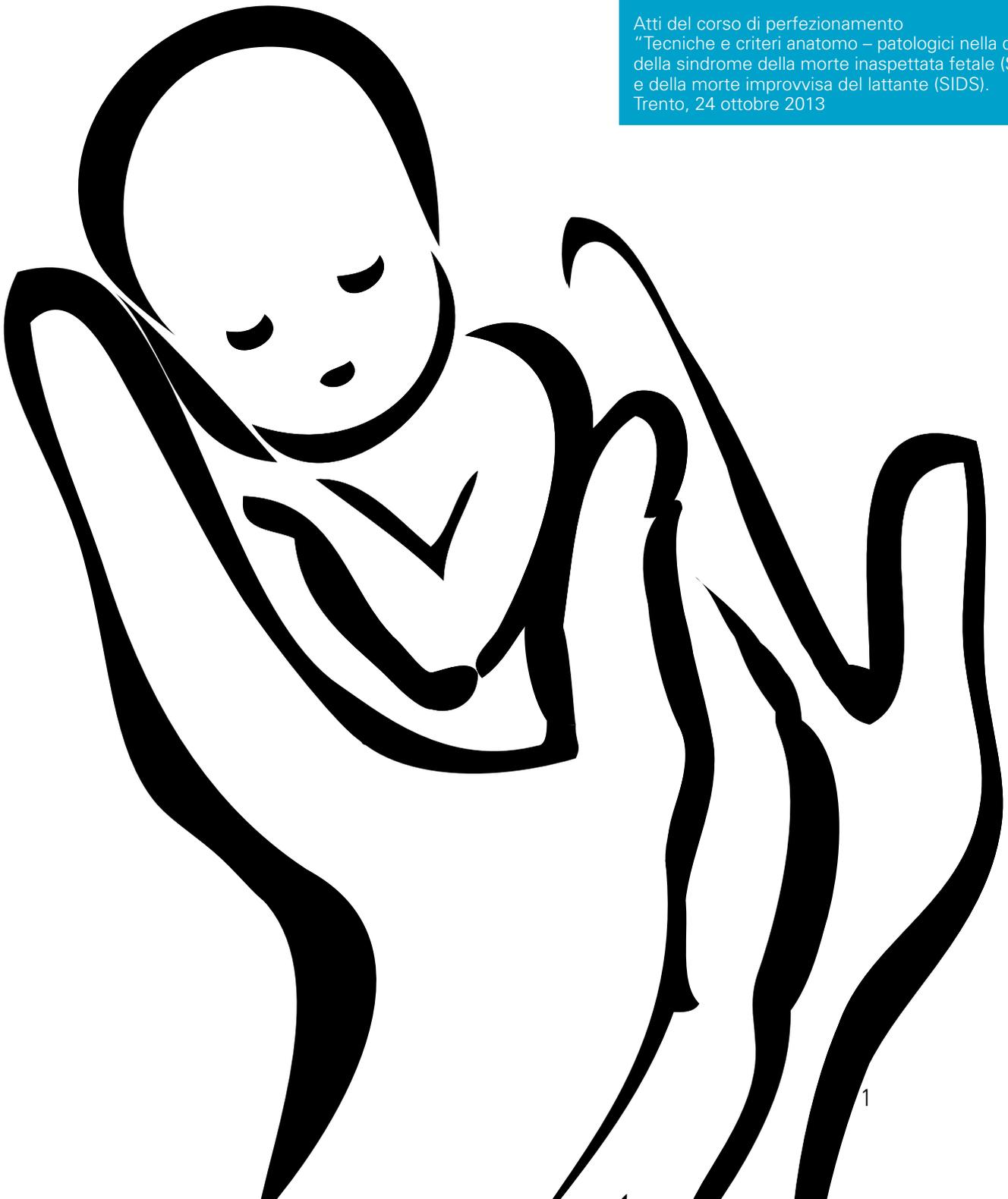
Provincia autonoma di Trento
Assessorato alla Salute
e solidarietà sociale



*Azienda Provinciale
per i Servizi Sanitari*
Provincia Autonoma di Trento

Eziopatogenesi, diagnosi, genetica, tossicologia e legislazione della sindrome della morte inaspettata fetale e della morte improvvisa del lattante

Atti del corso di perfezionamento
"Tecniche e criteri anatomico – patologici nella diagnostica
della sindrome della morte inaspettata fetale (SIUDS)
e della morte improvvisa del lattante (SIDS).
Trento, 24 ottobre 2013



infosalute *focus*

Eziopatogenesi, diagnosi, genetica, tossicologia e legislazione della sindrome della morte inaspettata fetale e della morte improvvisa del lattante

Atti del corso di perfezionamento

"Tecniche e criteri anatomo – patologici nella diagnostica della sindrome della morte inaspettata fetale (SIUDS)
e della morte improvvisa del lattante (SIDS)". Trento, 24 ottobre 2013

A cura di Teresa Pusiol, Doriana Morichetti, Maria Grazia Zorzi

Provincia autonoma di Trento
Assessorato alla Salute e solidarietà sociale
Servizio Politiche sanitarie e per la non autosufficienza
Ufficio Formazione e sviluppo delle risorse umane
Via Gilli, 4 - 38121 Trento
tel. 0461 494105 - fax 0461 494175
formazione.sanita@provincia.tn.it
www.trentinosalute.net

© copyright Giunta della Provincia autonoma di Trento – 2014

L'utilizzo del materiale pubblicato è consentito con citazione obbligatoria della fonte

Eziopatogenesi, diagnosi, genetica, tossicologia e legislazione della sindrome della morte inaspettata fetale e della morte improvvisa del lattante

Atti del corso di perfezionamento

“Tecniche e criteri anatomo – patologici nella diagnostica
della sindrome della morte inaspettata fetale (SIUDS)
e della morte improvvisa del lattante (SIDS).

Trento, 24 ottobre 2013

La sindrome della morte improvvisa del lattante, nota anche come sindrome della morte improvvisa infantile o morte inaspettata del lattante, è un fenomeno che non trova ancora oggi alcuna spiegazione presso la comunità scientifica.

Si tratta di eventi drammatici che lasciano le famiglie in un dolore che spesso crea, specie nella madre, forti sensi di colpa per la perdita del proprio figlio. Importante è quindi impegnarsi e mettere in atto qualsiasi azione che possa contribuire a conoscere le cause di morte nel corso di questi tragici accadimenti e quindi supportare genitori e operatori sanitari in momenti di estrema difficoltà.

La Provincia autonoma di Trento è stata una tra le prime realtà a recepire la legge 31 del 2006 "Disciplina del riscontro diagnostico sulle vittime della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) e di morte inaspettata del feto", mediante la stipulazione, nel 2012, della convenzione con il Centro "Lino Rossi" dell'Università di Milano, che nel 2008 il Ministero della Salute ha riconosciuto quale Centro di riferimento nazionale per l'applicazione della legge. Per realizzare le finalità della convenzione è stato redatto un "Protocollo operativo sulla sorveglianza epidemiologica della natimortalità e della SIDS per lo studio e la prevenzione della morte fetale/perinatale e della morte improvvisa del lattante", rivolto a tutti gli operatori sanitari interessati, con l'obiettivo di garantire modalità operative per la corretta gestione di ciascun caso.

Gli atti del seminario "Tecniche e criteri anatomico-patologici nella diagnostica della sindrome della morte inaspettata fetale e della morte improvvisa del lattante (SIDS)" organizzato a Trento il 24 ottobre 2013, che di seguito pubblichiamo, risultano particolarmente significativi in quanto forniscono ulteriori strumenti di approfondimento.

Un ringraziamento va agli anatomico-patologi, ai ginecologi, ai neonatologi, alle ostetriche, ai medici del territorio, agli operatori del 118 e del Servizio epidemiologica clinica e valutativa che hanno partecipato con entusiasmo a tutte le tappe del percorso che ha portato alla definizione del protocollo, con grande senso di collaborazione e responsabilità, consapevoli dell'importanza di aiutare famiglie in grande difficoltà, oltre che di fare chiarezza scientifica sulle cause di una morte.

Infine, un particolare ringraziamento ai responsabili dell'Unità operativa di Anatomia e Istologia Patologica dell'Ospedale Santa Maria del Carmine di Rovereto che curano l'applicazione del protocollo operativo e hanno organizzato l'evento formativo di ottobre cui si riferisce la presente pubblicazione.

Donata Borgonovo Re

*Assessora alla Salute e solidarietà sociale
della Provincia autonoma di Trento*

Eziopatogenesi, diagnosi, genetica, tossicologia e legislazione della sindrome della morte inaspettata fetale e della morte improvvisa del lattante

Atti del corso di perfezionamento

"Tecniche e criteri anatomo – patologici nella diagnostica
della sindrome della morte inaspettata fetale (SIUDS)
e della morte improvvisa del lattante (SIDS)".

Trento, 24 ottobre 2013

Indice

Introduzione	
Stato dell'arte della sindrome della morte inaspettata fetale e della morte improvvisa del lattante	13
Eziopatogenesi e patologia della sindrome della morte improvvisa fetale e del lattante	15
Neuropatologia della sindrome della morte improvvisa fetale e del lattante	25
Identificazione immunohistochimica dell'antigene neuN (neuronal nuclear antigen) quale parametro diagnostico nella sindrome della morte improvvisa fetale e del lattante	39
Campionamento e diagnostica patologica del sistema di conduzione cardiaco	43
Protocollo tecnico. Trattamento dei campioni e metodiche istologiche e istochimiche	61
Genetica molecolare. Metodi di conservazione e di estrazione del DNA e dell'RNA ...	77
Tossicologia. Modalità di raccolta e preparazione del materiale per lo studio tossicologico dei microinquinanti nella sindrome della morte improvvisa fetale e del lattante	83

APPENDICI

Legge 2 febbraio 2006, n. 31: "Disciplina del riscontro diagnostico sulle vittime della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) e di morte inaspettata del feto"	95
Convenzione tra la Provincia autonoma di Trento e il "Centro di ricerca Lino Rossi per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale (del feto a termine - stillbirth - e neonatale) e della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS)" dell'Università degli studi di Milano	97
Procedura dell'Azienda provinciale per i servizi sanitari di Trento per la sorveglianza epidemiologica della morte inaspettata perinatale e della sindrome della morte improvvisa del lattante	107

Introduzione

Stato dell'arte della sindrome della morte inaspettata fetale e della morte improvvisa del lattante

Letteralmente per “stato dell’arte” (da “state of the art”) si intende il più alto livello di sviluppo o conoscenza finora raggiunto da una tecnologia o da un campo d’indagine scientifico.

Delineare lo stato dell’arte sulla sindrome della morte inaspettata fetale e della morte improvvisa del lattante è certamente un tentativo difficile da realizzare, per non dire impossibile, nel significato del termine.

Significa fermare, anche per un solo attimo, il cammino incessante del progresso cognitivo. Ma tale tentativo è sempre opportuno per stabilire le conoscenze, evidenziare le zone grigie o prive di quelle acquisizioni necessarie per poter giungere a una completa comprensione del fenomeno.

Questa raccolta di lavori scientifici parte da un accadimento politico che ha innescato la possibilità di conoscere una legge statale rimasta inapplicata. I termini “inaspettato”, “improvviso” evidenziano drammaticamente un “buco nero” del nostro conoscere. Nel campo della morte inaspettata fetale e improvvisa del lattante questo “buco nero” si va sempre più restringendo e il corso di perfezionamento che abbiamo organizzato lo ha documentato.

Limiti di conoscenza ne esistono e sono molti. Ma le acquisizioni per comprendere gli eventi sono sempre più numerose, anche se non conosciute.

Il Centro di ricerca “Lino Rossi” per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS dell’Università degli Studi di Milano rappresenta un riferimento nella letteratura mondiale per l’autorevole pubblicistica e l’esperienza acquisita ed è di conseguenza una fonte di conoscenze in grado di stabilire l’eziopatogenesi, la diagnostica, la patologia dei drammatici ac-

cadimenti che una legge ha voluto affrontare ponendo l’Italia all’avanguardia nel mondo per risolvere drammi luttuosi.

Il Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita, e dell’Ambiente dell’Università di Urbino coinvolto nella ricerca dimostra che il nesso causale tra malattie e ambiente è ormai imprescindibile.

Alla Provincia autonoma di Trento il merito, per prima, di aver attuato una legge rimasta per troppi anni inapplicata. A tutti gli attori di questa proposta culturale i nostri ringraziamenti.

**Teresa Pusiol
Doriana Morichetti
Maria Grazia Zorzi**

Struttura complessa di Anatomia ed Istologia Patologica dell’Ospedale di Rovereto, Centro di Riferimento APSS per l’attuazione della Legge 31/2006.

Eziopatogenesi e patologia della sindrome della morte improvvisa fetale e del lattante

La morte improvvisa fetale (pre- ed intra-partum) e del lattante costituisce uno dei maggiori problemi socio-sanitari e scientifici della medicina. Si deve sottolineare che non esiste un criterio internazionale standard per definire temporalmente la morte fetale. Per l'OMS è la 22ª settimana e/o il peso di almeno 500 g. In USA ed Australia è sopra la 20ª settimana, mentre in Norvegia è alla 16ª. Il 10 febbraio 2006 è stata promulgata la Legge n.31 "Disciplina del riscontro diagnostico sulle vittime di morte improvvisa del lattante e di morte inaspettata del feto". Il Ministero della Salute ha approvato il regolamento di attuazione il 30 novembre 2007 ed ha individuato il Centro di ricerca "Lino Rossi", dell'Università Statale di Milano, referente nazionale per l'applicazione della banca dati (art.4 della Legge), in sostituzione dell'Istituto di Anatomia Patologica, disattivato.

Tale Legge rappresenta una pietra miliare di politica sanitaria, prima al mondo, che attribuisce alle Regioni ed alle Province autonome il compito di sviluppare le attività previste di prevenzione, ricerca, aggiornamento professionale, informazione e sensibilizzazione della popolazione e sostegno psicologico alle famiglie colpite (fig. 1).

La Provincia autonoma di Trento, prima in Italia, il 9 luglio 2012 ha attivato e resa operativa la Legge in collaborazione con il Centro di ricerca "Lino Rossi".

Rilevanti sono i risultati già acquisiti, quali la realizzazione della Banca Dati (prevista dall'art. 4 della Legge), indispensabile per le indagini epidemiologiche nazionali e lo sviluppo dell'attività di ricerca anatomo-clinica, genetica e tossicologica, intesa ad approfondire la conoscenza sulla natura e sulla sede delle alterazioni ed ad identificare la presenza ed il ruolo dei fattori di rischio ambientali.

Luigi Maturri

Presidente del Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

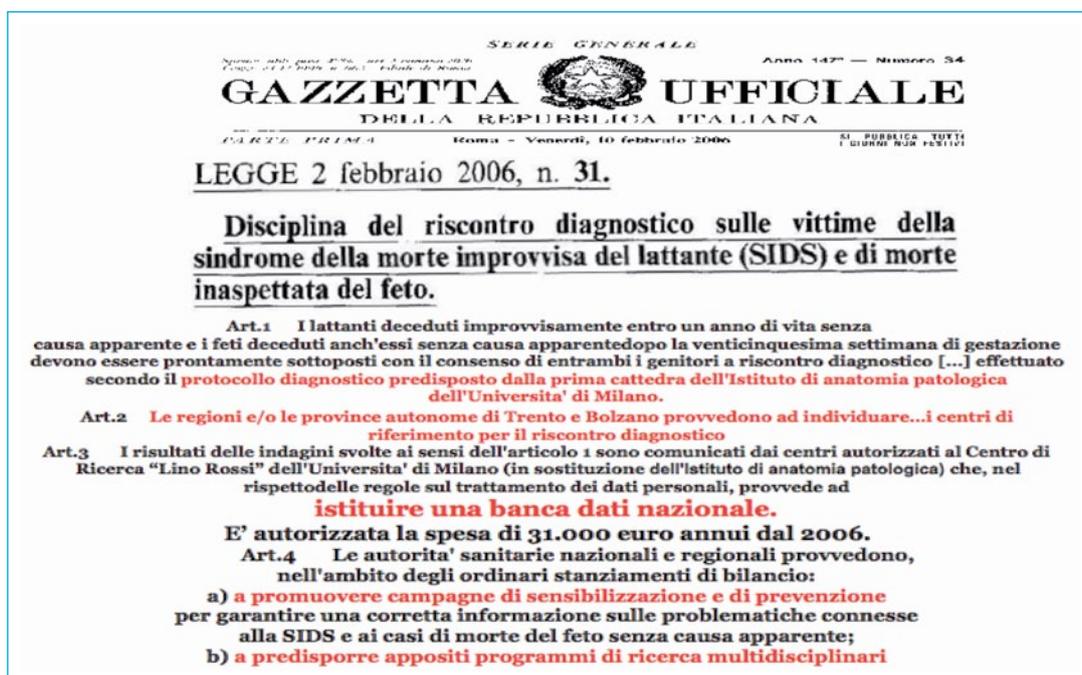


Figura 1. Legge 2 febbraio 2006, n. 31.

L'attuale corso di aggiornamento rappresenta la prima realizzazione nel nostro Paese di quanto stabilito dall'art. 4 della Legge.

Incidenza ed eziopatogenesi

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (1) indica che la morte fetale, nelle nazioni più sviluppate, ha l'incidenza di un caso ogni 100-200 gravidanze e sottolinea che è frequentemente prevedibile. Essa si manifesta in circa il 90% dei casi nel corso della gravidanza, per lo più nelle ultime settimane di gestazione (morte fetale ante-partum) e nel 10% durante il travaglio (morte fetale intra-partum).

Nel complesso, nel mondo occidentale la morte fetale è responsabile di gran parte delle morti perinatali, il restante è costituito da quelle neonatali precoci. La sua incidenza è circa 10 volte superiore a quella della sindrome della morte improvvisa del lattante (Sudden infant death syndrome - SIDS). Nelle nazioni in via di sviluppo le cause predominanti sono l'ipoalimentazione, i processi infiammatori e le carenze assistenziali.

Secondo l'International Stillbirth Alliance (ISA) dell'università di Harvard (2) nei paesi

sviluppati la morte fetale improvvisa è provocata dai seguenti fattori favorenti:

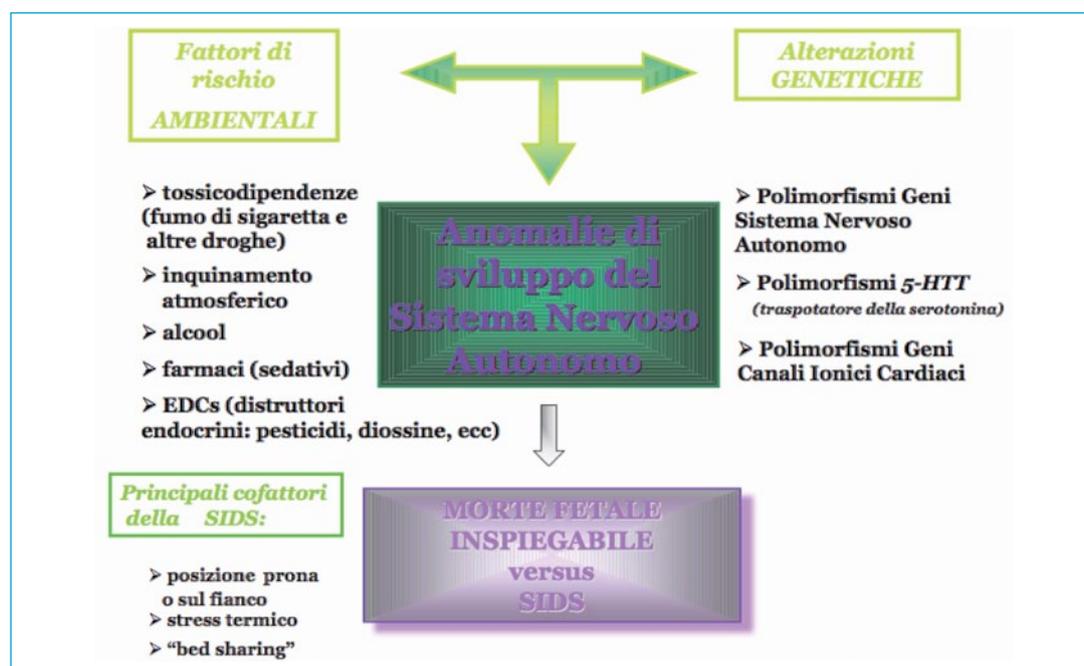
- infezioni batteriche e/o virali (15-24%)
- malformazioni o difetti genetici (7-20%)
- altre lesioni placentari, quali distacco della placenta, cicatrici, coaguli, ecc. (15-20%)
- alterazioni del cordone ombelicale, quali nodi, ecc., che riducono il flusso sanguigno (3-10%)
- emorragie (3-9%).

Secondo molte istituzioni oltre i 2/3 delle morti fetali risultano inspiegabili, a causa della incompletezza delle indagini rivolte ad individuare una causa di morte. Inoltre, non esiste un metodo standard di esecuzione delle autopsie, specie di neuropatologia, e neppure un database dove registrare i risultati delle autopsie dal quale i ricercatori possano attingere informazioni. Tuttavia, trovare una causa è di fondamentale importanza per le famiglie che hanno avuto un bimbo nato morto.

Le morti fetali inspiegabili nelle fasi finali di gravidanza sono la principale causa di morte perinatale nel mondo occidentale. Nei paesi in via di sviluppo prevalgono le infezioni e le carenze nell'assistenza ostetrica".

Figura 2

I fattori di rischio ambientali, associati ad alterazioni genetiche, possono causare anomalie dello sviluppo. Pertanto le micro-malformazioni, specie cerebrali, sono l'espressione dell'alterato processo di maturazione e differenziazione causato dai fattori di rischio.



Fattori di rischio

Tra le noxae patogene primeggiano il fumo di sigaretta, altre droghe, l'alcolismo e l'uso di farmaci, per lo più sedativi.

Rilevante è altresì l'effetto altamente patogeno dell'inquinamento atmosferico (specialmente delle particelle di diametro inferiore ai 2,5 µm, PM 2,5) (3) ed ambientale per la presenza di "endocrine disrupting compounds" (EDCs), composti tossici che comprendono una vasta gamma di sostanze chimiche, quali diossina, furani e pesticidi (4). Queste sostanze tossiche danneggiano gravemente le strutture responsabili della barriera emato-encefalica e pertanto penetrano nel parenchima encefalico alterandone lo sviluppo (5, 6, 7).

Questi fattori di rischio, unitamente a particolari polimorfismi genici, possono avere influenze negative sui geni che controllano lo sviluppo delle strutture del sistema nervoso autonomo con conseguenti anomalie morfologiche e funzionali, come illustrato nello schema (fig. 2).

I fattori di rischio materni predisponenti sono: l'età avanzata, il sovrappeso (indice di massa corporea superiore a 25), il diabete mellito, l'ipertensione arteriosa, i disturbi della coagulazione, la preeclampsia, l'elevato tasso di emoglobina, le infezioni virali e batteriche. Mentre i processi infiammatori e le gravi malformazioni determinano precocemente la morte del feto, il rischio provocato da altre cause aumenta progressivamente dopo la 35° settimana di gestazione, specie nelle gravidanze protratte.

Patologia congenita del sistema neurovegetativo nella morte inaspettata e "inspiegabile" perinatale e nella sindrome della morte improvvisa del lattante

Il ruolo fondamentale del sistema nervoso autonomo nella regolazione delle attività vitali (respiratoria, cardio-vascolare, del risveglio e dell'apparato digerente)

è unanimemente riconosciuto (8, 9, 10). Paradossalmente, l'esame neuropatologico nelle vittime della Morte improvvisa fetale (Sudden Intrauterine Unexplained Death Syndrome SIUDS) e SIDS, di preminente importanza, è ancora purtroppo trascurato, a causa dell'ignoranza dei fondamenti di neuropatologia vegetativa. Questo riesame critico, intende esporre le attuali conoscenze morfologiche del vasto e poco esplorato campo della neuropatologia letale "inspiegabile" dell'infante, pre- e post-natale.

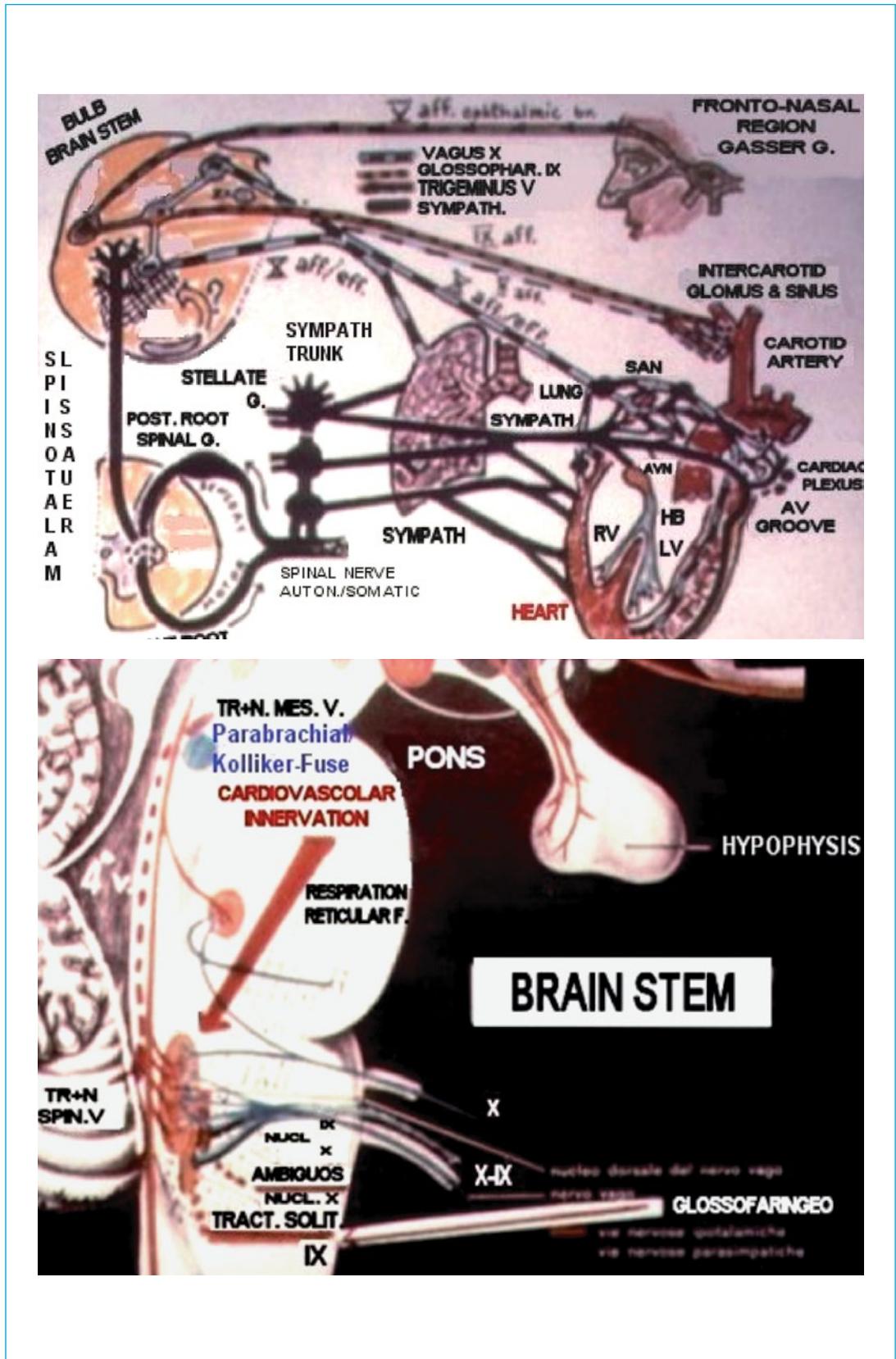
Il sistema nervoso vegetativo, che presiede alle attività vitali, comprende le strutture centrali (del tronco cerebrale, del midollo allungato e del cervelletto) e quelle periferiche del mediastino (plessi gangliari e paragangliari, recettori intercarotidei) unitamente ai nervi ed ai gangli. Queste complesse strutture costituiscono l'arco riflesso chemo-baro (o meccanico) recettoriale che, con integrazioni psico-emozionali superiori, condiziona disfunzioni di varia intensità, sino alla morte improvvisa riflessa (fig.3).

L'esame morfologico accurato di tutte queste strutture (7,8) in un'ampia casistica di morti improvvise ed inspiegabili perinatali e di morte improvvisa del lattante (Tab. 1) ha messo in evidenza frequentissime anomalie di sviluppo sia delle strutture del sistema nervoso autonomo, centrale e periferico, che del sistema di conduzione cardiaco (11-16).

Questi dati testimoniano la comune natura congenita ed avvalorano l'osservazione del National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) (17) del 2000: "SISD could be considered as a developmental disorder. It could take origin during fetal development".

Figura 3

Schema dell'innervazione delle attività vitali, centrali e periferiche, comprendente il sistema di conduzione cardiaco e le strutture del tronco cerebrale (nucleo dorsale del vago parasimpatico (X), ambigu e del tratto solitario (X-XI), la superficie nucleo pontino di Kölliker-Fuse, nucleo arcuato chemosensitivo, branca oftalmica del trigemino (V), e sostanza reticolare respiratoria e del midollo allungato (nucleo intermedio laterale, T₁-T₅ ortosimpatico). Il sistema nervoso autonomo periferico comprende: recettori intercarotidi, gangli e paragangli indistinti e terminazioni recettoriali intracardiache.



	Numero casi	Numero casi Provincia di Trento
SIUDS ANTEPARTUM	68	17
SIUDS INTRAPARTUM	18	1
SIDS (entro 1° mese)	34	1
SIDS	144	2
Totale	264	21

Tabella 1

Numero casi totali e della provincia di Trento di SIUDS e SIDS.

Rilevante è l'affermazione di R. Kurz e R. Roos che nel trattato di Pediatria del 1996 (Ed. Thieme) rilevano che "...uncertain pathogenesis...probably nervous centers instability... reflex respiratory, cardio-circulatory derangements". Va rilevato che le anomalie congenite sono più estese e diffuse nei casi di morte inspiegabile prenatale e si riducono progressivamente nella morte fetale intrapartum, in quella neonatale precoce, nel primo mese di vita e ulteriormente nella SIDS. Queste anomalie strutturali si accompagnano a disturbi funzionali conseguenti alla ridotta sintesi di vari neurotrasmettitori (catecolamine,

serotonina, somatostatina, ecc.) (12, 13). Rilevante è l'assenza di tirosina idrossilasi, enzima necessario per la sintesi delle catecolamine, nei neuroni del locus coeruleus (18) e la difettosa espressione della somatostatina, di norma intensa nei nuclei cerebrali del feto, nel nucleo ipoglosso (19). L'indice apoptotico è infine risultato elevato nei nuclei e nella corteccia del cervelletto. Nel sistema nervoso autonomo periferico è stata riscontrata immaturità strutturale dei gangli simpatici cervicali, la presenza di interneuroni (cellule cromaffini) nel ganglio cervicale superiore ed iperplasia dei paragangli mediastinici

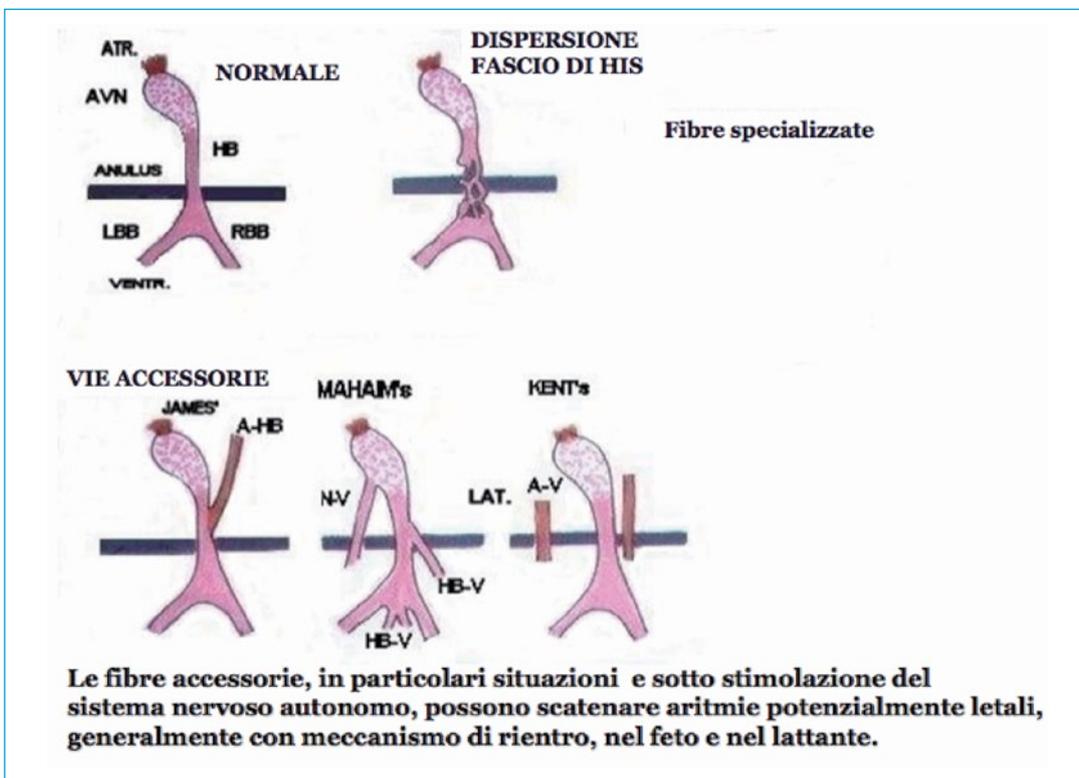


Figura 4

Presentazione anatomica della giunzione AV, con le vie AV normali e accessorie. ATR: atrio; AVN: nodo atrio-ventricolare; LBB: branca sinistra; RBB: branca destra; HB: fascio di His; A-HB: atrio-His; N-V: nodo-ventricolare; HB-V: fascio di His-ventricolo.

(20,21,22). Frequenti sono le anomalie cardiache. Esse si configurano prevalentemente nell'insufficiente processo di riassorbimento pre- e post-natale del tessuto giunzionale con presenza di fasci accessori per lo più di Mahaim e meno frequentemente di Kent. Tali anomalie, sotto l'influenza neurovegetativa, possono scatenare aritmie da rientro anche mortali (8,9,10,19)(fig. 4). Deve essere infine sottolineato lo sviluppo di neoplasie (tumore delle cellule di Purkinje (23), fibroma cardiaco (24)) e di cardiomiopatie (ipertrofia e/o aritmogenia).

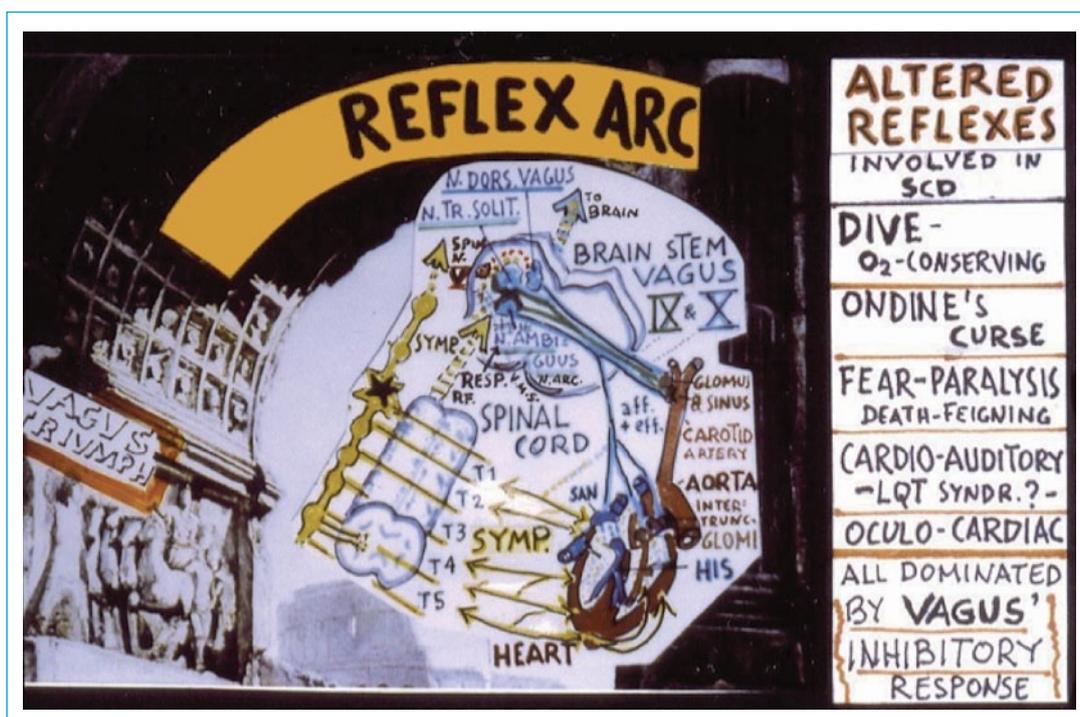
Nel complesso (fig.5) le anomalie del sistema nervoso autonomo, come anche quelle del sistema di conduzione cardiaco, rappresentano il substrato di meccanismi riflessi, talora scatenati da stimoli esterni, con improvviso arresto delle funzioni vitali, specie cardio-respiratorie (riflesso da tuffo, riflesso della maledizione di Ondine, riflesso acustico, riflesso della finta morte). L'associazione delle micro-malformazioni del sistema nervoso autonomo e di conduzione cardiaco ne suggerisce l'origine comune. Di rilievo è infatti il riscontro di anomalie cerebrali in bambini

focomelici (25, 26), di anomalie dei villi coriali e la concomitante presenza di aterosclerosi placentare e fetale. Pertanto le noxae patogene ledono l'unità fetto-annessiale. I dati prima ricordati puntualizzano la molteplicità delle conseguenze provocate dalle noxae patogene e consentono di rimuovere distinzioni semantiche eccessivamente drastiche tra morti fetali improvvise spiegabili ed "inspiegabili" e ribadiscono la necessità di un'indagine completa post-mortem specie neuropatologica.

Incommensurabili saranno le ricadute scientifiche che deriverebbero dalle accresciute conoscenze sulle patologie del periodo prenatale, ancora così oscuro, ma oggi "scrigno" di molte "risposte" preventive a patologie del giovane, dell'adulto e persino dell'anziano. Numerose sono le affezioni post-natali ad insorgenza fetale già individuate, cardiovascolari, dell'apparato respiratorio, del sistema nervoso centrale e malformative, associate ad anomalie del sistema nervoso autonomo. Di rilievo è l'aterosclerosi fetale "sistemica" provocata dal fumo di sigaretta, caratterizzata dalla partecipazione sia delle

Figura 5

Strutture responsabili dell'arco riflesso barorecettoriale (metaforicamente rappresentato dall'arco trionfale di Tito). La preponderanza dell'influenza vagale è alla base dello scatenamento dei riflessi indicati.





arterie di grosso e medio calibro (27-30) ed anche delle arteriole (nell'ambito delle emorragie intra- e peri-ventricolari del prematuro (31) ed anche del sistema arterioso del funicolo ombelicale e della placenta (32)). Significativo è il riscontro di iposviluppo polmonare favorente l'insorgenza delle frequenti affezioni infiammatorie respiratorie dell'infante (33) e della corteccia cerebrale pre-frontale, plausibile substrato di disturbi cognitivi e comportamentali dell'infante (34). Per quanto concerne le malformazioni, oltre alla focomelia prima ricordata, singolare

è il substrato genetico comune delle malformazioni cranio-facciali (35). Non è compito del patologo trarre conclusioni sulla diagnosi clinica e sulla prevenzione della SIUDS e della SIDS. Il patologo, anche se arriva troppo tardi per evitare la tragedia, può comunque soddisfare la necessità di un accurato esame post-mortem volto ad individuare i substrati morfologici della SIUDS e della SIDS, in particolare l'istopatologia aritmogena ed i circuiti neuronali cardio-respiratori, finora trascurati.

BIBLIOGRAFIA

1. World Health Organization (WHO). Neonatal and perinatal mortality: country, regional and global estimates. 2006; pp 1-75.
2. www.stillbirthalliance.org
3. Calderón-Garcidueñas L, Azzarelli B, Acuna H, Garcia R, Gambling TM, Osnaya N, Monroy S, DEL Tizapantzi MR, Carson JL, Villarreal-Calderon A, et al. Air pollution and brain damage. *Toxicol Pathol* 2002; 30: 373-389.
4. Cappiello A, Famigliani G, Palma P and Mangani F. Trace level determination of organophosphorus pesticides in water with the new direct-electron ionization LC/MS interface. *Anal Chem* 2002; 74: 3547-3554.
5. Lavezzi AM, Corna MF, Matturri L. Ependymal alterations in sudden intrauterine unexplained death and sudden infant death syndrome: possible primary consequence of prenatal exposure to cigarette smoking. *Neural Dev* 2010 19: 5-17.
6. Lavezzi AM, Mecchia D, Matturri L. Neuropathology of the area postrema in sudden intrauterine and infant death syndromes related to tobacco smoke exposure. *Auton Neurosci* 2012; 166: 29-34.
7. Lavezzi AM, Matturri L, Del Corno G, Johanson CE. Vulnerability of fourth ventricle choroid plexus in sudden unexplained fetal and infant death syndromes related to smoking mothers. *Int J Dev Neurosci* 2013; 31: 319-327.
8. Rossi L, Matturri L, Lotto A: Cardiac Conduction Blocks and Pacemaking. Ed. Class International, 1988.
9. Rossi L, Matturri L. Clinicopathological approach to cardiac arrhythmias. Centro Scientifico Torinese, Torino, Italy, Futura Pub.Co Mount Kisco, N.Y., 1990.
10. Rossi L, Matturri L. Cardiac conduction and nervous system in health, disease and sudden death: an anatomoclinical overview. *Osp. Maggiore, Milano (Italy)* 1995; 89: 239-257.
11. Lavezzi AM, Matturri L. Hypoplasia of the parafacial/facial complex: a very frequent finding in sudden unexplained fetal death. *Open Neurosci J* 2008; 2: 1-5.
12. Lavezzi AM, Casale V, Oneda R, Weese-Mayer DW, Matturri L. Sudden infant death syndrome and sudden intrauterine unexplained death: correlation between hypoplasia of raphe nuclei and serotonin transporter gene promoter polymorphism. *Ped Res* 2009; 66: 22-27.
13. Hornung JP. The human raphe nuclei and the serotonergic system. *J Chem Neuroanat* 2003; 26: 331-343.

14. Rossi L. Structures of the human baroreflex arc in health and disease. *Eur JCPE* 1992; 2: 53.
15. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM. Sudden infant death triggered by dive reflex. *J Clin Pathol* 2005; 58: 77-80.
16. Maturri L, Lavezzi AM. Unexplained stillbirth versus SIDS: common congenital diseases of the autonomic nervous system - pathology and nosology. *Early Hum Dev* 2011; 87: 209-215.
17. NICHD Strategic Plan 2000. *From Cells to Selves*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, p.13.
18. Lavezzi AM, Ottaviani G, Mingrone R, Maturri L. Analysis of the human locus coeruleus in perinatal and infant sudden unexplained death. Possible role of the cigarette smoking in the development of this nucleus. *Dev Brain Res* 2005; 154: 71-80.
19. Lavezzi AM, Ottaviani G, Maturri L. Role of somatostatin and apoptosis in breathing control in sudden perinatal and infant unexplained death. *Clin Neuropathol* 2004; 23: 304-310.
20. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM, Ramos SG. Peripheral chemoreceptors and sudden infant death syndrome: a wide open problem. *Curr Cardiol Rev* 2005; 1: 65-70.
21. Ramos SG, Maturri L, Biondo B, Ottaviani G, Rossi L. Hyperplasia of the aorticopulmonary paraganglia: a new insight into the pathogenesis of sudden infant death syndrome? *Cardiologia*. 1998; 43: 953-958.
22. Porzionato A, Macchi V, Parenti A, Maturri L, De Caro R. Peripheral chemoreceptors: postnatal development and cytochemical findings in Sudden Infant Death Syndrome. *Histol Histopathol*. 2008; 23: 351-365.
23. Ottaviani G, Maturri L, Rossi L, Lavezzi AM, James TN. Multifocal cardiac Purkinje cell tumor in infancy. *Europace* 2004; 6: 138-141.
24. Ottaviani G, Rossi L, Ramos SG, Maturri L. Pathology of the heart and conduction system in a case of sudden death due to a cardiac fibroma in a 6-month-old child. *Eur J Histochem* 1999; 43: 7-14.
25. Maturri L, Nodari R. Studio anatomo-clinico su 19 casi di embriopatia da talidomide, in "Folia Hereditaria et Pathologica", vol. 12, 1963, pp. 267-278.
26. Maturri L, Guccione G, Manara G. Azione della talidomide sugli embrioni di topo. *Atti Soc It Pat* 1965; 1-43.
27. Maturri L, Lavezzi AM, Ottaviani G, Rossi L. Intimal pre-atherosclerotic thickening of the coronary arteries in human fetuses of smoker mothers. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2234-2238.
28. Maturri L, Ottaviani G, Corti G, Lavezzi AM. Pathogenesis of early atherosclerotic lesions in infants. *Pathol Res Pract* 2004; 200: 403-410.
29. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM. Early atherosclerosis lesions in infancy: role of parental cigarette smoking. *Virchows Arch* 2005; 447: 74-80.
30. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM, Rossi L. Early atherosclerotic lesions of the cardiac conduction system arteries in infants. *Cardiovasc Pathol* 2004; 13: 276-281.
31. Maturri L, Mecchia D, Lavezzi AM. Severe intra- and periventricular hemorrhage: role of arteriolosclerosis related to maternal smoke. *Childs Nerv Syst* 2011; 27: 1979-1983.
32. Mecchia D, Lavezzi AM, Mauri M, Maturri L. Feto-placental atherosclerotic lesions in intrauterine fetal demise: role of parental cigarette smoking. *Open Cardiovasc Med J* 2009; 3:51-56.
33. Maturri L, Lavezzi AM, Cappellini A, Ottaviani G, Minoli I, Rubino B, Rossi L. Association between pulmonary hypoplasia and hypoplasia of arcuate nucleus in stillbirth. *J Perinatol* 2003; 23: 328-332.

- 
34. Lavezzi AM, Mauri M, Mecchia D, Matturri L. Developmental alterations of the prefrontal cerebral cortex in sudden unexplained perinatal and infant deaths. *J Perinat Med* 2009; 37: 297-303.
 35. Todd ES, Weinberg SM, Berry-Kravis EM, Silvestri JM, Kenny AS, Rand CM, Zhou L, Maher BS, Marazita ML, Weese-Mayer DE. Facial phenotype in children and young adults with PHOX2B-determined congenital central hypoventilation syndrome: quantitative pattern of dysmorphology *Pediatr Res* 2006; 59: 39-45.

Neuropatologia della sindrome della morte improvvisa fetale e del lattante

Dall'esame della letteratura internazionale emerge sempre più il coinvolgimento di difetti di sviluppo del sistema nervoso autonomo nella patogenesi della Sindrome della morte improvvisa fetale (*Sudden Intrauterine Unexplained Death Syndrome - SIUDS*) e della Sindrome della morte improvvisa del lattante (*Sudden Infant Death Syndrome - SIDS*).

In caso di morte improvvisa inaspettata di un feto o di un lattante è pertanto fondamentale l'esame del sistema nervoso centrale e in particolare del tronco cerebrale, sede dei principali centri vitali.

Modalità di esame dei centri che controllano le funzioni vitali

Dopo aver prelevato il tronco cerebrale dall'encefalo (dal chiasma ottico nel mesencefalo al midollo spinale) si procede alla fissazione e al campionamento.

L'esame anatomopatologico del tronco pre-

vede il prelievo di tre campioni. Il primo si estende dal mesencefalo caudale al terzo superiore del ponte, il secondo comprende essenzialmente la parte caudale del ponte e il terzo una porzione di midollo allungato che include l'obex (vertice inferiore del pavimento del quarto ventricolo). Un quarto campione è ottenuto dal midollo spinale, precisamente dal tratto cervico-toracico (1,2).

In questi prelievi sono contenuti i principali nuclei coinvolti nel determinismo della morte improvvisa perinatale.

La **fig. 1** schematizza le sezioni istologiche che si ottengono dai vari campioni con l'indicazione di diverse strutture che possono essere individuate.

Riportiamo le strutture che necessariamente devono essere esaminate in modo approfondito in caso di morte inaspettata di un feto o di un neonato e le principali alterazioni di sviluppo osservate in tali patologie.

Anna Maria Lavezzi

Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

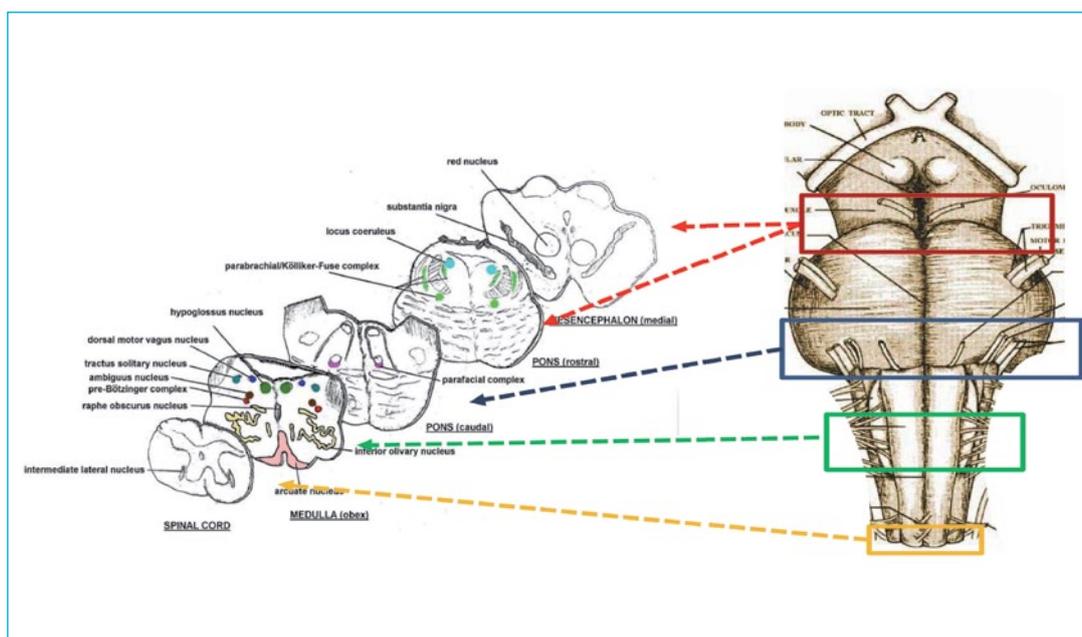


Figura 1

Schema del campionamento e delle sezioni istologiche che si ottengono da ogni prelievo.

Network respiratorio (NR)

Il NR è costituito da più centri nervosi adibiti al controllo della respirazione che, pur avendo differenti localizzazioni, sono collegati tra loro tramite sinapsi interneuroniche con la possibilità di modularsi vicendevolmente in relazione alle necessità. I componenti di questa rete, a differenza di altre strutture nervose che possono maturare lentamente nei primi mesi di vita, devono per la maggior parte essere perfettamente sviluppati e funzionali al termine della gravidanza per permettere l'avvio dei primi atti respiratori e una regolare respirazione postnatale. Nella tabella sottostante sono indicati i più importanti nuclei respiratori, ordinati secondo una sequenza cronologica di attivazione.

Tabella 1

Principali strutture appartenenti al network respiratorio.

	Nucleo/ complesso	Localizzazione
1.	nucleo intermedio laterale	midollo spinale (tratto cervico-toracico)
2.	nucleo di Kölliker-Fuse	ponte rostrale
3.	complesso facciale/parafacciale	ponte caudale
4.	nucleo pre-Bötzinger	midollo allungato (obex)

Pur essendo così importanti, questi centri hanno una breve estensione, risultando completamente inclusi nei prelievi effettuati con il campionamento.

Difetti di sviluppo dei nuclei respiratori rappresentano un riscontro frequente in soggetti deceduti improvvisamente non solo nei primi mesi di vita ma anche nelle ultime settimane di gestazione. Mentre la morte improvvisa di un neonato trova una plausibile spiegazione, in quanto difetti di sviluppo di uno o più centri del NR possono determinare un inefficace controllo autonomo sia della ventilazione

che del ritmo sonno-veglia dopo la nascita, più difficile è ipotizzare una correlazione tra alterazioni dell'attività respiratoria e morte fetale. Disturbi dei saltuari movimenti respiratori che si verificano normalmente nel feto, finalizzati essenzialmente allo sviluppo polmonare, non sono sufficienti per giustificare una morte improvvisa prenatale. Si può tuttavia ipotizzare che nelle ultime settimane di gestazione, con l'avvicinarsi dell'inizio della vita extra-uterina, si verifichi una sorta di controllo dello stato di maturazione e di funzionalità delle strutture che saranno poi necessarie per garantire una corretta attività ventilatoria durante la vita. La morte inaspettata di un feto a termine, dopo una gravidanza decorsa in genere regolarmente, può essere interpretata come il risultato di un processo di selezione che porta all'autoeliminazione di un soggetto con alterazioni di sviluppo di uno o più centri respiratori e che non ha quindi i requisiti indispensabili per la sopravvivenza dopo la nascita. Inoltre è possibile che i nuclei del NR non siano adibiti solo al controllo della respirazione ma più estesamente al controllo di tutte le funzioni vitali, compresa quella cardiocircolatoria. Le attuali informazioni sulla localizzazione e la struttura dei vari componenti del NR derivano da studi sperimentali condotti per lo più sul topo. Nell'uomo, non potendo ovviamente effettuare esperimenti, gli stessi nuclei sono stati identificati in base a criteri morfologici di similitudine per quanto riguarda la localizzazione, la citoarchitettura e il numero dei neuroni e utilizzando, quando possibile, metodiche immunostochimiche in grado di evidenziare gli stessi neurotrasmettitori che nel topo sono stati riconosciuti come specifici per una determinata struttura.

Componenti del network respiratorio

1. Nucleo intermedio laterale (NIL)

I primi movimenti respiratori appaiono saltuariamente in utero già a partire dall'11ª settimana di gestazione, finalizzati allo sviluppo polmonare nel feto, stimolando il rilascio di

fluido tracheale e quindi l'espansione alveolare. Ebbene, questa particolare funzione è generata dal NIL, definito per questo motivo "sorgente dell'attività respiratoria". I suoi neuroni riescono a promuovere i primi impulsi ventilatori ancor prima che si sviluppino a pieno le sinapsi tra i vari componenti del NR, con una trasmissione di tipo neurochimico basata su flussi ionici extracellulari.

Localizzazione e struttura

Il NIL è ben evidente nelle sezioni istologiche ottenute dal tratto cervico-toracico del midollo spinale. Nella vita fetale si presenta come un gruppo numeroso di neuroni

immaturi nel punto di passaggio tra corno anteriore e corno posteriore (fig. 2). Nelle ultime settimane di gestazione il NIL va incontro a una riduzione del numero dei neuroni e una loro differenziazione. Attorno alla nascita perde la sua funzione nell'ambito del NR, divenendo un nucleo efferente dell'ortosimpatico.

Alterazioni di sviluppo del NIL nella SIUDS e nella SIDS

Sono stati osservati vari gradi di ipoplasia (fino all'agenesia) del NIL soprattutto nei casi di SIUDS tardiva, frequentemente in associazione con ipoplasia polmonare (3).

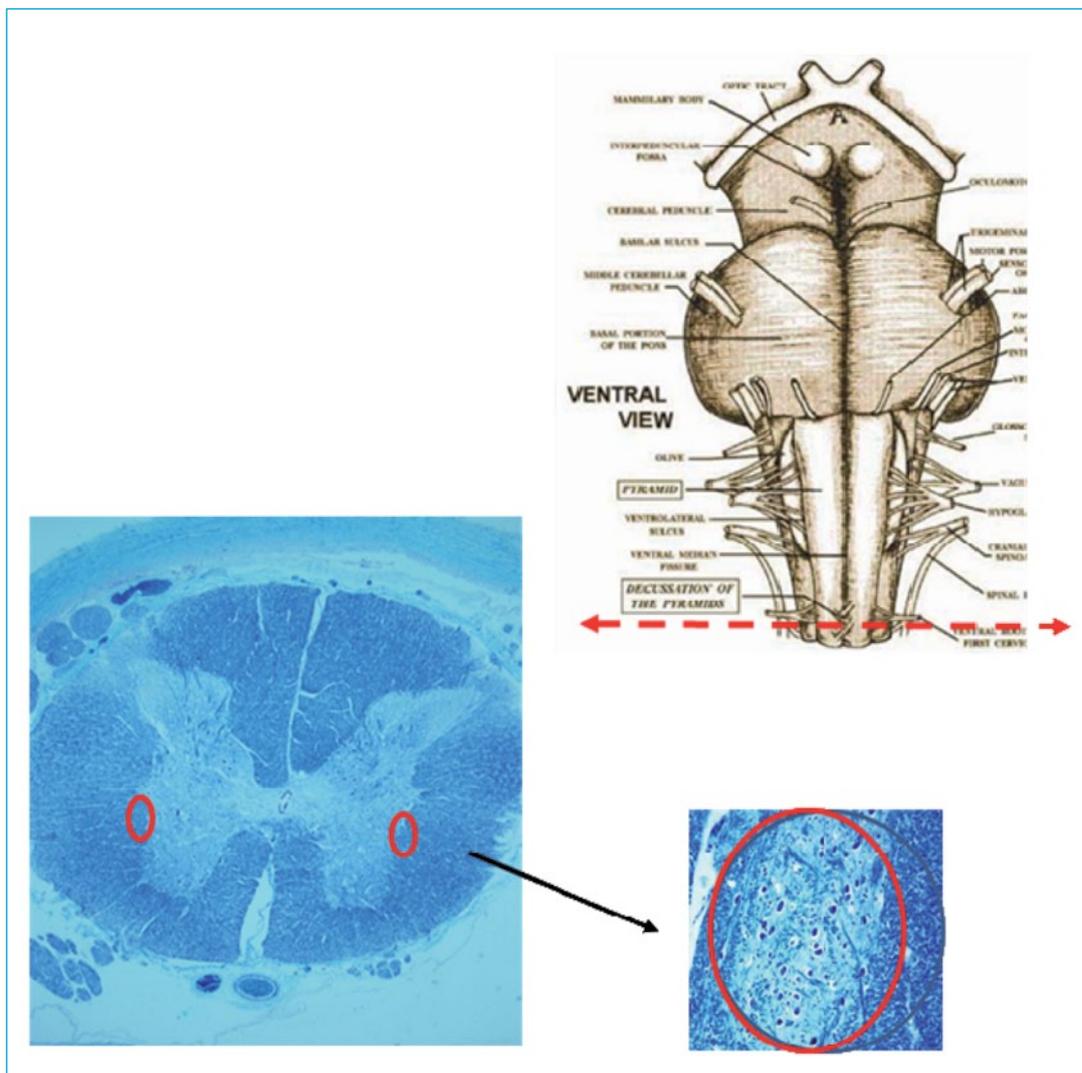


Figura 2
Nucleo intermedio laterale

2. Nucleo di Kölliker-Fuse (NKF)

Questo nucleo ha molteplici funzioni:

- La sua azione nell'ambito del NR inizia nelle ultime settimane di gestazione con lo scopo principale di impedire la respirazione fetale. Questa attività inibitoria viene bloccata saltuariamente per l'intervento di specifici interneuroni per permettere l'attività del NIL, e quindi gli sporadici movimenti respiratori che si verificano nel feto.
- Al momento della nascita il NKF cambia drasticamente la sua funzione, divenendo responsabile dell'avvio della respirazione extrauterina. Il suo compito principale è quello di stimolare i cosiddetti "nuclei inspiratori" perché attivino il primo atto respiratorio e quelli successivi per tutta la vita (l'espirazione è considerata invece un fenomeno passivo che si verifica al termine dell'inspirazione, determinata principalmente dalla decontrazione dei muscoli respiratori).
- Il NKF ha inoltre un'azione chemorecettoriale, cioè è in grado di rilevare la concentrazione di O_2 , CO_2 e il pH del liquido interstiziale e, in caso di un disequilibrio di uno di questi parametri, di inviare l'informazione agli altri centri del NR che provvedono immediatamente a ripristinarne i livelli normali regolando il ritmo respiratorio.

Localizzazione e struttura

Il NKF si estende dal ponte rostrale alla porzione caudale del mesencefalo. È ben visibile nelle sezioni più rostrali del ponte, al confine con il mesencefalo, riconoscibili per la presenza della decussazione dei peduncoli cerebellari superiori (non evidente invece nelle sezioni più caudali). Si presenta come un piccolo gruppo di neuroni molto grandi, ricchi di sostanza di Nissl, localizzato in prossimità della linea mediana tra la decussazione dei peduncoli e il lemnisco mediale (**fig.3**).

Alterazioni di sviluppo del NKF nella SIUDS e nella SIDS

Una riduzione drastica del numero dei neuroni (severa ipoplasia) è stata osservata con elevata frequenza nelle morti improvvise intra-partum (4).

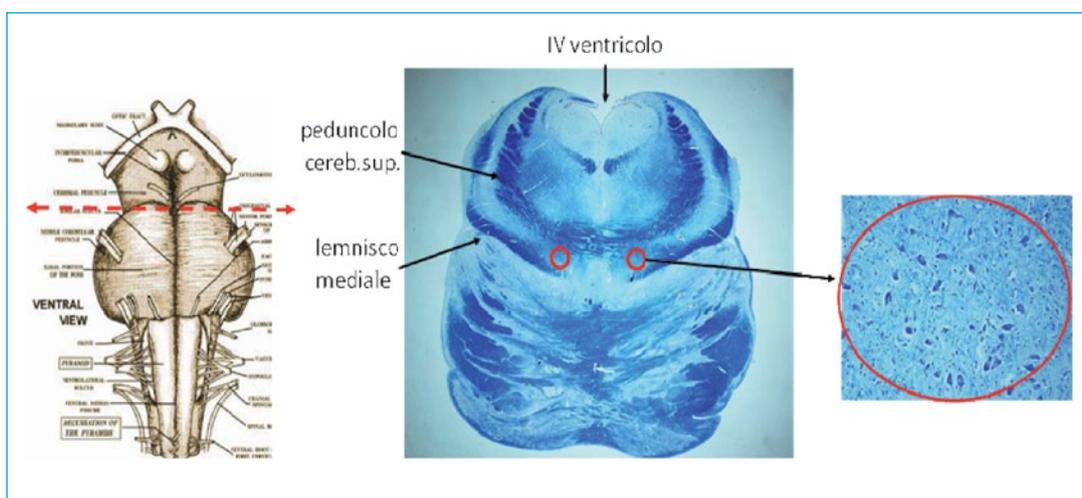
3. Complesso facciale/parafacciale (CF/PF)

Il CF/PF entra in funzione al momento della nascita, su stimolazione del NKF, provvedendo ad avviare il primo atto inspiratorio. Precisamente la sua attività è definita "pre-inspiratoria" in quanto si limita a stimolare a sua volta il vero nucleo inspiratorio rappresentato dal pre-Bötzinger nel midollo allungato.

Localizzazione e struttura

Il CF/PF è localizzato nella parte caudale del ponte (**fig. 4**). È ben analizzabile nelle sezioni

Figura 3
Nucleo
di Kölliker-Fuse



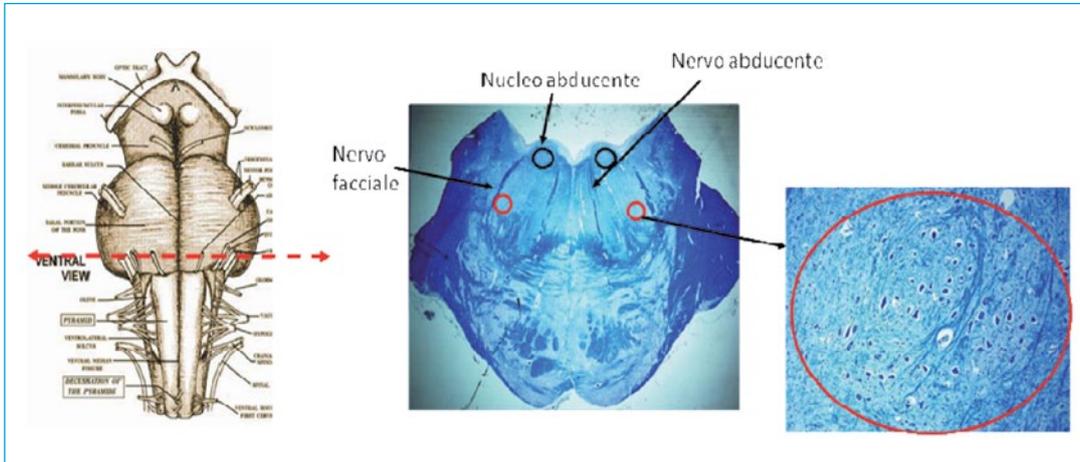


Figura 4
Complesso facciale/parafacciale

in cui appaiono evidenti il nervo abducente e il nervo facciale, a ridosso di quest'ultimo (fig.4). È costituito da due nuclei adiacenti (il nucleo facciale e il nucleo parafacciale) i cui neuroni appaiono spesso commisti. Per questo motivo si considera il complesso F/PF, anche se il vero nucleo pre-inspiratorio è il solo nucleo parafacciale. Occorre precisare comunque che diversi neuroni del nucleo facciale, notoriamente coinvolto nel controllo dei muscoli facciali, presentano connessioni con il NKF, per cui non è da escludere una sua collaborazione all'attività dell'adiacente PF.

Alterazioni di sviluppo del CF/PF nella SIUDS e nella SIDS

L'ipoplasia del CF/PF è stata osservata esclusivamente in un'alta percentuale di casi di

morte intrauterina nelle ultime settimane di gestazione (5).

4. Nucleo pre-Bötzing (NpB)

Il NpB rappresenta il vero nucleo inspiratorio, responsabile dell'inizio della respirazione alla nascita e di tutti i successivi movimenti inspiratori.

Localizzazione e struttura

Il NpB è localizzato nel midollo allungato, ben riconoscibile nelle sezioni più rostrali del campione di tronco cerebrale prelevato all'altezza dell'obex, nelle quali si evidenzia il subnucleo "accessorio dorsale" del nucleo olivare inferiore (assente invece nelle sezioni più caudali dello stesso prelievo (fig.5). Si presenta come un gruppo di neuroni allungati

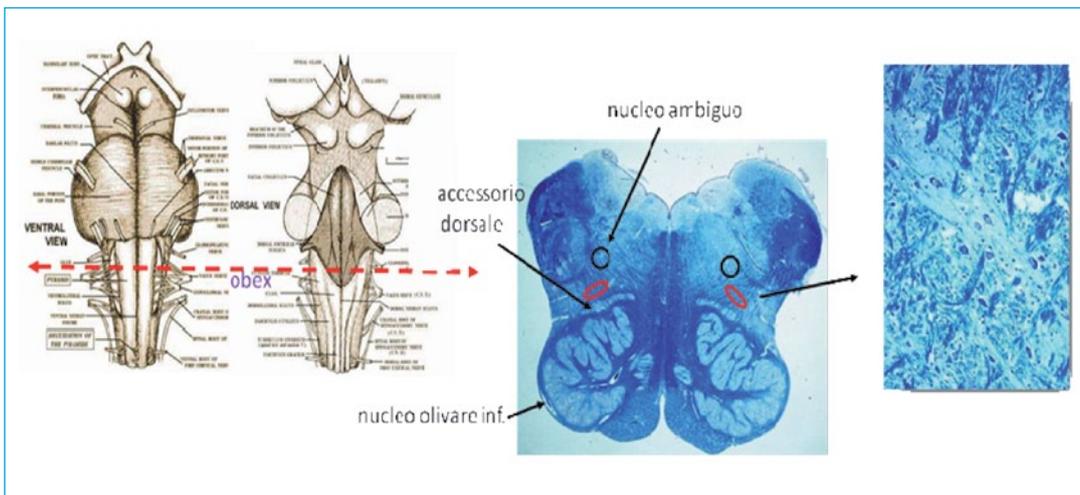


Figura 5
Nucleo pre-Bötzing

Figura 6

Nuclei del rafe

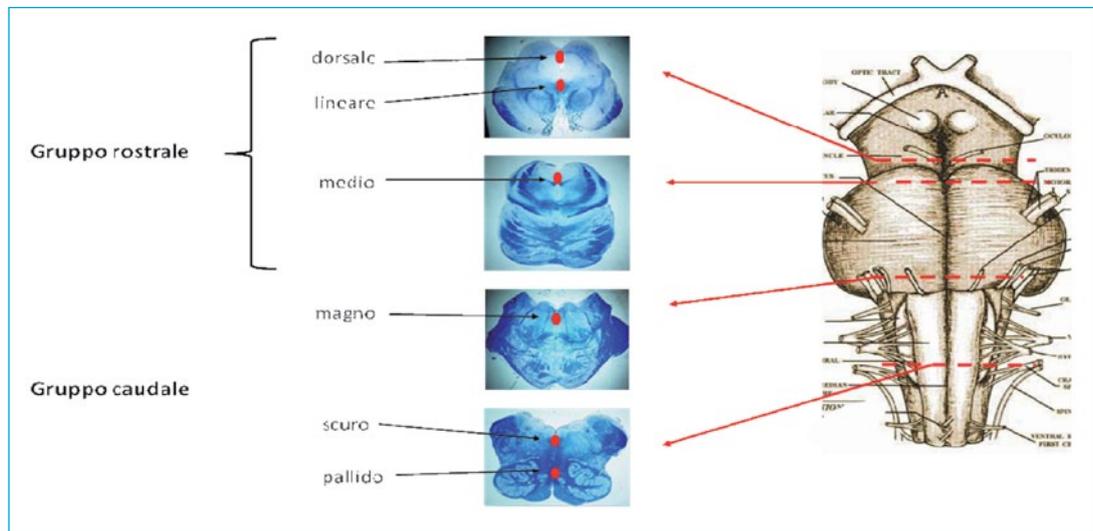


Tabella 2

Principali strutture chemorecettoriali (SCR)

localizzato posteriormente all'accessorio e ventralmente al nucleo ambiguo, in un'area di parenchima con scarse fibre nervose.

Il NpB può essere facilmente identificabile con metodica immunocistochimica in quanto i suoi neuroni sono tra i maggiori produttori di somatostatina, un neuroormone che agisce anche come neurotrasmettitore, stimolando in particolare i recettori dell'acetilcolina.

Alterazioni di sviluppo del NpB nella SIUDS e nella SIDS

Ipoplasia del NpB è stata osservata in circa la metà dei casi di morte fetale tardiva e in neonati deceduti nelle prime ore di vita (6).

Strutture chemorecettoriali (SCR)

Le SCR sono numerose, sparse nel sistema nervoso autonomo. Sono finalizzate al mantenimento di una respirazione fisiologica dopo la nascita, rilevando nel liquido interstiziale le varie concentrazioni di gas e idrogeno e inviando le informazioni ai vari nuclei del NR che provvedono di conseguenza a modulare la loro attività al fine di mantenere questi parametri nei valori normali (7). La **tab. 2** riporta le principali SCR.

	Nucleo/ struttura	Localizzazione
1.	nuclei del rafe	tronco cerebrale
2.	nucleo di Kölliker-Fuse	ponte rostrale
3.	nucleo retrotrapezoide	ponte caudale
4.	nucleo arcuato	midollo allungato (obex)
5.	ependima	ventricoli
6.	area postrema	midollo allungato

1. Nuclei del rafe (NRA)

I NRA sono distribuiti in tutto il tronco cerebrale lungo la linea mediana. Sono stati suddivisi in 2 gruppi, uno rostrale e uno caudale (**fig. 6**). Sono tra i maggiori produttori di serotonina, un neurotrasmettitore implicato in molte funzioni (quali il controllo della respirazione, del sistema cardiovascolare, della temperatura corporea, del ritmo sonno-veglia), oltre a svolgere un'azione trofica sullo sviluppo del sistema nervoso nel feto (8). La presenza di serotonina nei neuroni dei NRA è dimostrabile con metodi-

ca immunoistochimica specifica per questo neurotrasmettitore.

Alterazioni di sviluppo dei NRA nella SIUDS e nella SIDS

L'ipoplasia di uno o più nuclei del rafe rappresenta un frequente riscontro sia nelle morti inaspettate fetali che nella SIDS, spesso associata ad un genotipo S/L del gene trasportatore della serotonina (9).

2. Nucleo di Kölliker-Fuse (NKF)

L'attività chemorecettoriale è una delle tante funzioni svolte da questo nucleo, come descritto precedentemente.

3. Nucleo retrotrapezoide (NRT)

Il NRT ha una brevissima estensione ed è costituito da un piccolo gruppo di neuroni disposti in posizione adiacente e ventrale al CF/PF. Pur avendo un'estensione così limitata, il NRT riveste un ruolo molto importante nella chemorecezione.

Nei suoi neuroni è fortemente espresso il gene PHOX2B, un gene coinvolto nella sindrome da ipoventilazione congenita (10), come si può dimostrare con metodica immunoistochimica per il prodotto di questo gene (fig.7). È pertanto molto importante l'esame del NRT nei casi di morte improvvisa soprattutto neonatale, in quanto è ipotizzabile una sua

implicazione anche nei disturbi respiratori che conducono alla SIDS.

Alterazioni di sviluppo del NRT nella SIUDS e nella SIDS

Sono state osservate sia alterazioni strutturali (agenesia, ipoplasia) che di espressione del gene PHOX2B (111).

4. Nucleo arcuato (NA)

Il NA è un nucleo localizzato sulla superficie ventrale del midollo allungato facilmente individuabile in quanto molto esteso e ben delimitato. È analizzabile in modo ottimale nel campione di tronco cerebrale prelevato a livello dell'obex (fig. 8).

Gli assoni dei suoi neuroni rilevano direttamente le varie concentrazioni di O_2 , CO_2 e pH nel liquido cefalorachidiano che ricopre il tronco.

Alterazioni di sviluppo del NA nella SIUDS e nella SIDS

Vari gradi di ipoplasia del NA (bilaterale, monolaterale, limitata a una sola porzione, agenesia) sono stati riportati molto frequentemente nei casi di morte improvvisa perinatale (12). È da segnalare comunque che questa alterazione, a differenza di quelle osservabili in altre strutture, rappresenta un frequente riscontro anche nei casi controllo.

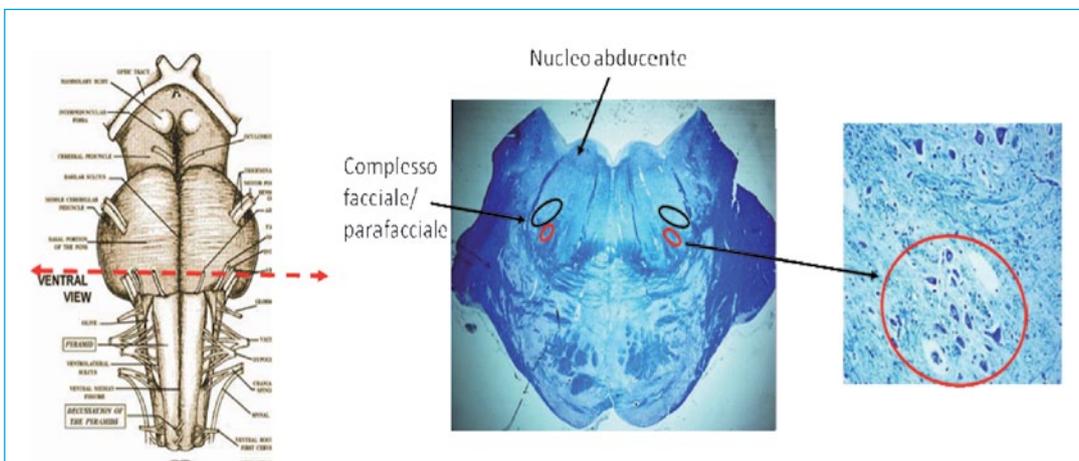
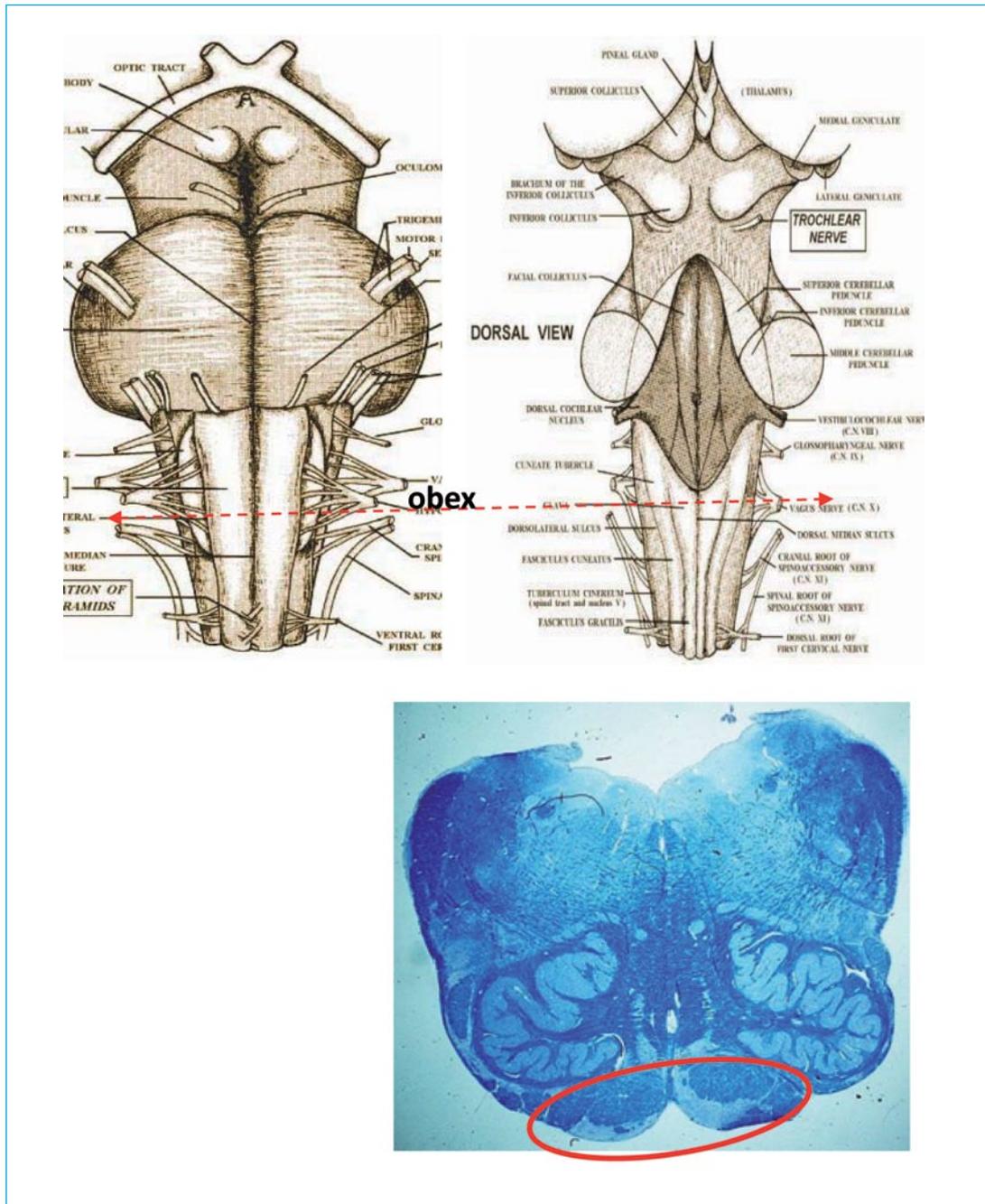


Figura 7
Nucleo retrotrapezoide

Figura 8
Nucleo arcuato



5. Ependima (EP)

L'EP è un sottile neuroepitelio che delimita le cavità del sistema nervoso centrale (ventricoli e canale centrale del midollo spinale). È formato da cellule colonnari, ciliate, prive di membrana basale (ependimociti) in grado di formare una barriera tra il liquido cefalorachidiano ed il tessuto cerebrale, favorendo al

tempo stesso l'assorbimento per endocitosi di sostanze utili e l'espulsione all'esterno dei vari cataboliti (fig. 9A).

La funzione chemorecettoriale dell'EP è svolta soprattutto nel periodo fetale dai cosiddetti "taniciiti", cellule ependimali specializzate, frammiste alle cellule normali, caratterizzate dalla presenza di lunghi processi basali che

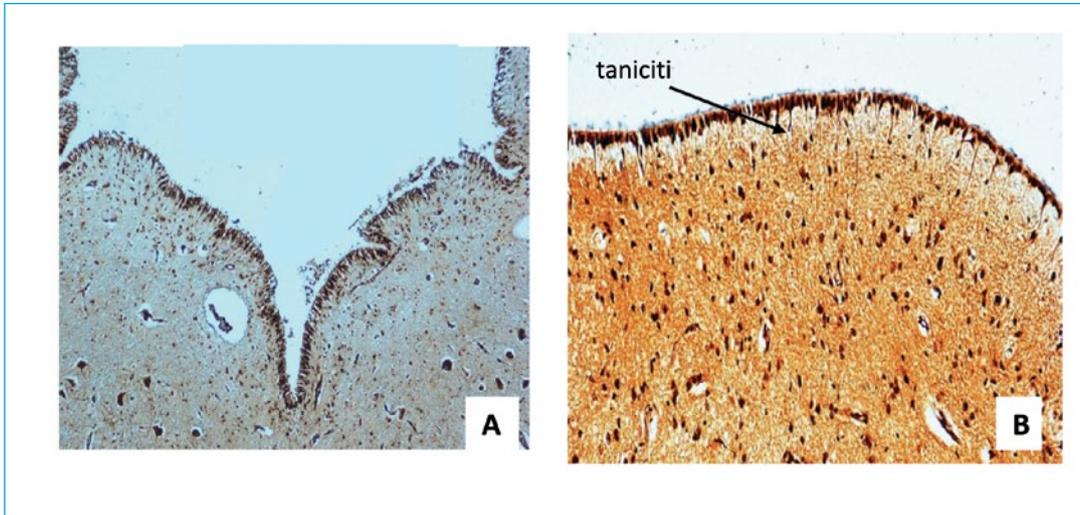


Figura 9

Ependima. A: sono presenti cellule ependimali normali. B: sono evidenti i "tanyciti".

raggiungono i neuroni del parenchima sottostante trasferendo ad essi le informazioni relative ai vari parametri biochimici rilevati nel liquor (**fig. 9B**).

Alla nascita i tanyciti perdono i loro prolungamenti trasformandosi in cellule ependimali normali.

Alterazioni di sviluppo dell'EP nella SIUDS e nella SIDS

Diversi tipi di anomalie del rivestimento ependimale (quali desquamazioni, ectopie cellulari, assenza di tanyciti nei feti), con conseguente alterazione della primaria funzione di barriera protettiva, rappresentano un reperto molto frequente nelle morti improvvise perinatali (13).

6. Area Postrema (AP)

L'AP è una struttura localizzata al limite infero-posteriore del quarto ventricolo, contigua all'ependima, caratterizzata dall'assenza di epitelio di rivestimento e dalla presenza di numerosi capillari con endotelio fenestrato. L'AP rappresenta una delle poche regioni encefaliche in cui non esiste barriera ematoencefalica, permettendo il passaggio nel midollo allungato di sostanze presenti nel sangue, anche di macromolecole, senza alcuna selezione (**fig.10**). I suoi neuroni sono altamente specializzati a svolgere funzioni chemorecettoriali trasmettendo immediatamente segnali ai centri superiori di controllo prima che le sostanze nocive si diffondano nel parenchima cerebrale.

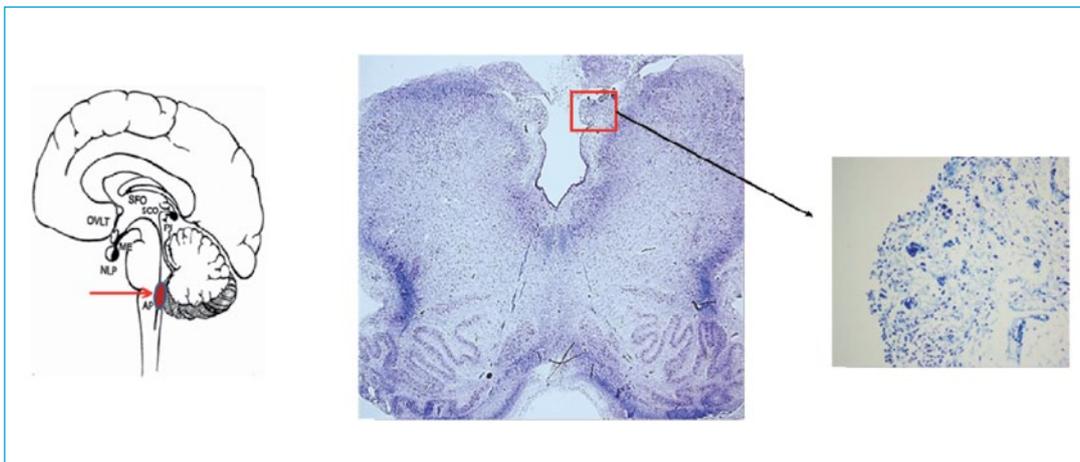
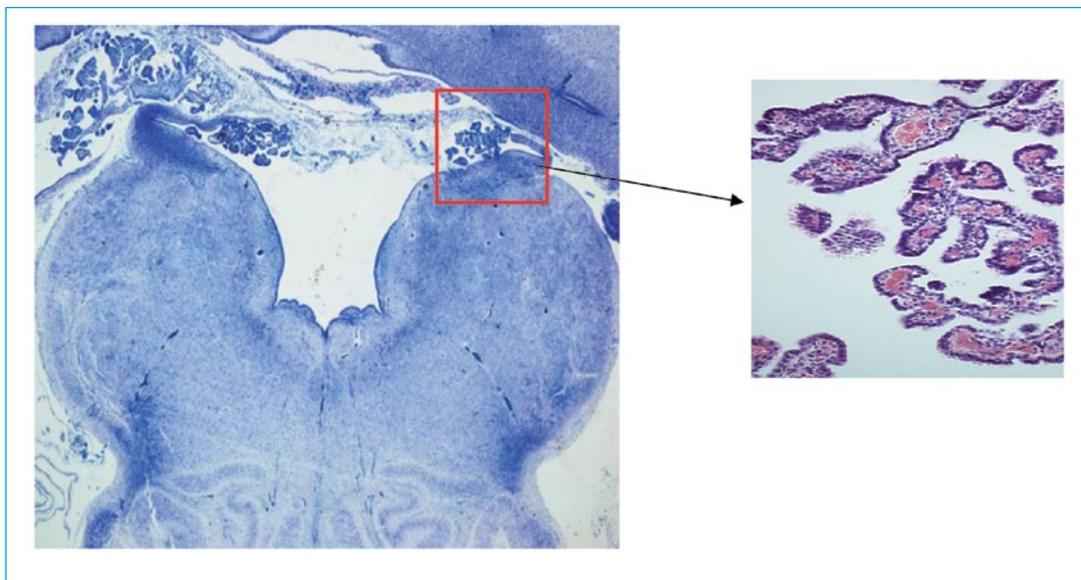


Figura 10

Area Postrema

Figura 11

Plesso coroideo
del IV ventricolo



Alterazioni di sviluppo dell'AP nella SIUDS e nella SIDS

Frequenti sono i difetti strutturali dell'AP. Sono state evidenziate in particolare: assenza di vascolarizzazione, presenza di formazioni cistiche, gliosi e ipoplasia soprattutto nelle vittime di SIDS (14).

Plessi coroidei (PC)

I PC sono strutture localizzate sulla superficie dei ventricoli cerebrali, costituite da una fitta rete di capillari immersi in uno stroma lasso rivestito da cellule endoteliali modificate. Oltre a svolgere funzione di barriera, i PC sono sede di sintesi del liquido cefalorachidiano (**fig.11**).

Alterazioni di sviluppo dei PC nella SIUDS e nella SIDS

Recente è la dimostrazione in una elevata percentuale di casi di morte improvvisa perinatale di difetti sia strutturali che funzionali dei PC del 4° ventricolo. Si è osservato in particolare: deplezione vascolare, formazioni cistiche stromali, immaturità e desquamazione dell'epitelio di rivestimento oltre ad un elevato indice apoptotico (15).

Corteccia del cervelletto (CC)

Un'altra struttura da tenere in considerazione nel corso dello studio neuropatologico nei

casi di SIUDS e di SIDS è rappresentata dalla corteccia del cervelletto (CC), in quanto può offrire un valido indice dello stato di maturazione del sistema nervoso in generale. Il suo aspetto morfologico, soprattutto nel feto, cambia infatti da una settimana all'altra, raggiungendo lo stato di maturazione attorno all'anno di età (16). In base all'esame istologico della CC è possibile risalire all'età sia gestazionale che postnatale e quindi individuare un eventuale ritardo di sviluppo. Inoltre, poiché una delle funzioni principali della CC riguarda il controllo motorio, esteso anche al coordinamento dei muscoli respiratori, eventuali anomalie di sviluppo della CC possono determinare disturbi del ritmo ventilatorio.

Struttura

Nella CC dei feti e dei lattanti, oltre i 3 strati classici della CC (strato molecolare, delle cellule di Purkinje e granulare interno) è presente lo strato granulare esterno (SGE). Questo strato si sviluppa molto precocemente ed è ben riconoscibile già attorno alla 17^a-18^a settimana di gestazione. Verso la 20^a settimana compaiono gli strati sottostanti, ben distinguibili a 30 settimane di gestazione. Con il procedere del processo di differenziazione, protratto anche dopo la nascita, si

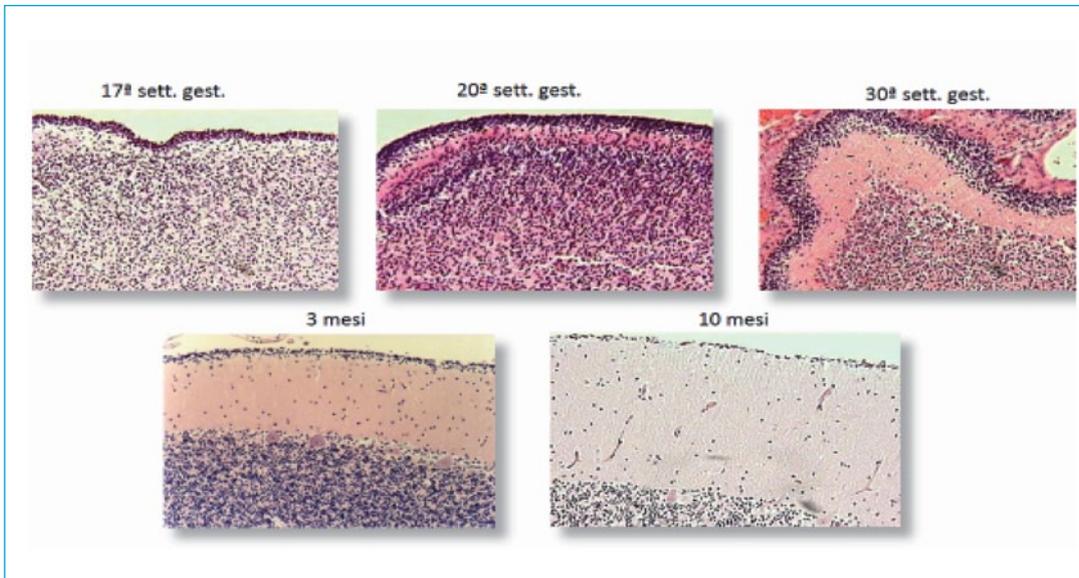


Figura 12
Maturazione
della corteccia
cerebellare

assiste ad un assottigliamento progressivo dello SGE (per migrazione di cellule verso lo strato granulare interno e apoptosi di quelle rimaste in sede) e ad una maturazione degli altri strati (fig.12).

Lo SGE scompare completamente attorno all'anno di età.

Alterazioni di sviluppo della CC nella SIUDS e nella SIDS

Alterazioni quali ipoplasia, iperplasia dello strato delle cellule di Purkinje, presenza di cellule di Purkinje ectopiche, programmi apoptotici anomali e spiccati ritardi di maturazione rappresentano reperti frequenti soprattutto nei casi di SIDS (17).

Le alterazioni di sviluppo delle strutture sopra riportate, riscontrate con elevata frequenza nelle vittime di SIUDS e di SIDS, sono riconducibili ad un ambiente intrauterino sfavorevole per la presenza di fattori tossici, quali componenti del fumo di sigaretta. Dai nostri studi è emersa infatti costantemente una stretta correlazione tra i vari reperti neuropatologici e il fumo materno.

In caso di madre fumatrice durante la gravidanza, la nicotina e l'ossido di carbonio (CO), suo principale prodotto di combustione, passano facilmente attraverso la

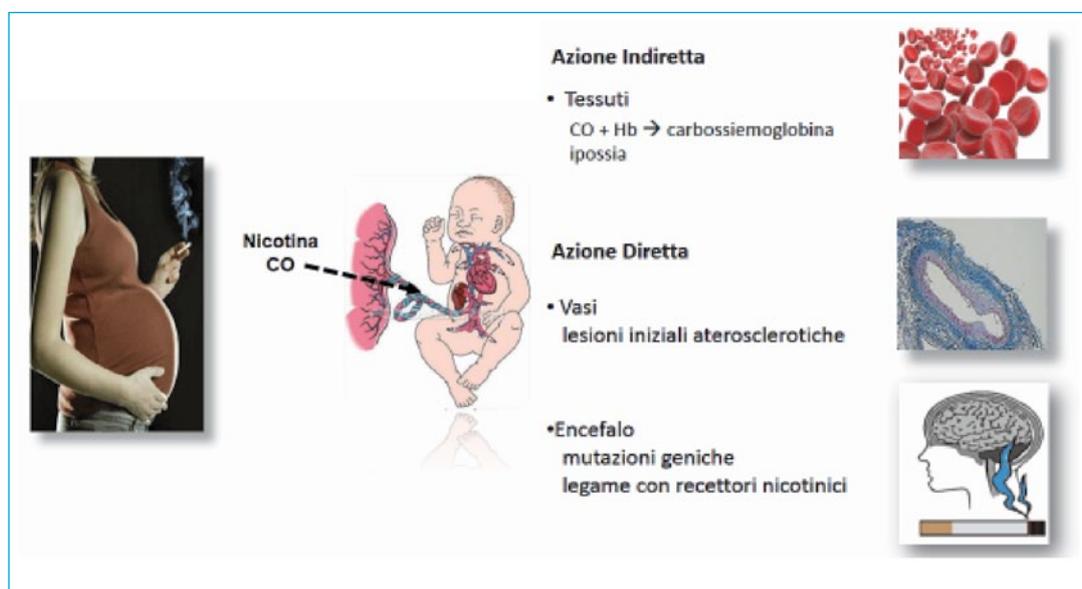
placenta nel circolo fetale dove possono raggiungere concentrazioni anche 4 volte superiori a quelle presenti nel sangue materno.

Molteplici possono essere le conseguenze nel feto (fig. 13):

- a. l'ossido di carbonio nel circolo fetale si lega facilmente all'emoglobina formando la carbossiemoglobina, un tipo di emoglobina che non è in grado di cedere l'ossigeno ai tessuti, causando così un'ipossia generalizzata, soprattutto negli organi più sensibili quali l'encefalo (18);
- b. la nicotina può agire direttamente sui vasi del feto inducendo iniziali lesioni aterosclerotiche (19);
- c. poiché la nicotina è una delle poche sostanze liposolubili in grado di superare la barriera ematoencefalica, può agire direttamente sul tessuto nervoso determinando alterazioni delle molecole di DNA, RNA e proteine dei neuroni, quindi anche mutazioni e variabilità dell'espressione genica (20);
- d. avendo un'elevata affinità per i recettori nicotinici (acetilcolinici) presenti sulla membrana dei neuroni, la nicotina si lega facilmente ad essi ostacolando così la trasmissione dell'acetilcolina (21).

Figura 13

Effetti del fumo materno in gravidanza



Al fine di ridurre l'incidenza della SIUDS e della SIDS, oltre la necessità di ridurre l'esposizione del feto e del neonato ai fattori di rischio "modificabili", quali il fumo di sigaretta materno, è indispensabile sottoporre a riscontro diagnostico tutti i casi di morte improvvisa e inattesa perinatale secondo le modalità sopraindicate. Questo comporta-

mento, oltre a garantire indagini ottimali in ogni singolo caso e rendere possibile un confronto omogeneo dei risultati ottenuti dagli studi autoptici, contribuirà alla validazione di precisi modelli eziopatogenetici in tali patologie al fine di ottimizzare gli interventi preventivi, soprattutto relativi allo stile di vita familiare, per le future gravidanze.

BIBLIOGRAFIA

1. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM. Techniques and criteria in pathologic and forensic-medical diagnostics of sudden unexpected infant and perinatal death. *Am J Clin Pathol* 2005; 124:259-268.
2. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM. 2008. Guidelines for neuropathologic diagnostics of perinatal unexpected loss and sudden infant death syndrome (SIDS). A technical protocol. *Virchows Arch* 2008; 452: 19-25.
3. Lavezzi AM, Corna MF, Mehboob R, Maturri L. Neuropathology of the intermediolateral nucleus of the spinal cord in sudden unexplained perinatal and infant death. *Int J Dev Neurosci* 2010; 28: 133-138.
4. Lavezzi AM, Ottaviani G, Ballabio GM, Rossi L, Maturri L. Preliminary study on the cytoarchitecture of the human parabrachial/Kölliker-Fuse complex with reference to sudden infant death syndrome and sudden intrauterine unexplained death. *Pediatr Dev Pathol* 2004; 7: 171-179.
5. Lavezzi AM, Maturri L. Hypoplasia of the parafacial/facial complex: a very frequent finding in sudden unexplained fetal death. *Open Neurosci J* 2008; 2: 1-5.
6. Lavezzi AM, Maturri L. Functional neuroanatomy of the human pre-Bötzing complex with particular reference to sudden unexplained perinatal and infant death. *Neuropathology* 2008; 28: 10-16.

7. Nattie EE. Central chemoreceptors, pH and respiratory control. In: Kaila, K., Ransom, B.R. (Eds.), pH and Brain Function. Wiley-Liss, New York, 1998; pp. 536-560.
8. Hornung JP. The human raphe nuclei and the serotonergic system. *J Chem Neuroanat* 2003; 26: 331-343.
9. Lavezzi AM, Casale V, Oneda R, Weese-Mayer DW, Maturri L. Sudden infant death syndrome and sudden intrauterine unexplained death: correlation between hypoplasia of raphe nuclei and serotonin transporter gene promoter polymorphism. *Ped Res* 2009; 66: 22-27.
10. Weese-Mayer, D.E, Berry-Kravis, E.M., Ceccherini, I., Rand, C.M., 2008. Congenital central hypoventilation syndrome (CCHS) and sudden infant death syndrome (SIDS): kindred disorders of autonomic regulation. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 164, 38-48. Review
11. Lavezzi AM, Weese-Mayer DE, Yu MY, Jennings LJ, Corna MF, Casale V, Oneda R, Maturri L. Developmental alterations of the respiratory human retrotrapezoid nucleus in sudden unexplained fetal and infant death. *Auton Neurosci* 2012; 170: 12-19.
12. Maturri L, Minoli I, Lavezzi AM, Cappellini A, Ramos S, Rossi L. Hypoplasia of medullary arcuate nucleus in unexpected late fetal death(stillborn infants):a pathologic study. *Pediatrics* 2002;109:E43.
13. Lavezzi AM, Corna MF, Maturri L. Ependymal alterations in sudden intrauterine unexplained death and sudden infant death syndrome. Possible primary consequence of prenatal exposure to cigarette smoking. *Neural Dev* 2010; 5: 17-25.
14. Lavezzi AM, Mecchia D, Maturri L. Neuropathology of the area postrema in sudden intrauterine and infant death syndromes related to nicotine exposure. *Auton Neurosci* 2012; 166: 29-34.
15. Lavezzi AM, Maturri L, Del Corno G, Johanson CE. Vulnerability of fourth ventricle choroid plexus in sudden unexplained fetal and infant death syndromes related to smoking mothers. *Int J Dev Neurosci* 2013; 31: 319-327.
16. Armstrong CL, Hawkes R. Pattern formation in the cerebellar cortex. *Biochem Cell Biol* 2000;78:551-562.
17. Lavezzi AM, Ottaviani G, Maturri L. Ontogenesis of human cerebellar cortex and bio-pathological characterization in sudden unexplained fetal and infant death. *Virchows Arch* 2007;450:31-40.
18. Dwyer JB, McQuown SC, Leslie FM. The dynamic effects of nicotine on the developing brain. *Pharmacol Ther* 2009; 122: 125-139.
19. Maturri L, Lavezzi AM, Ottaviani G, Rossi L. Intimal preatherosclerotic thickening of the coronary arteries in human fetuses of smoker mothers, *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2234-2238.
20. Lavezzi AM, Ottaviani G, Maturri L. Adverse effects of prenatal tobacco smoke exposure on biological parameters of the developing brainstem. *Neurobiol Dis* 2005; 20: 601-607.
21. Buisson B, Bertrand D. Chronic exposure to nicotine upregulates the human $\alpha 2$ nicotinic acetylcholine receptor function. *J Neurosci* 2001; 21: 1819-1829.

Identificazione immunoistochimica dell'antigene NeuN (neuronal nuclear antigen) quale parametro diagnostico nella sindrome della morte improvvisa fetale e del lattante

NeuN (*Neuronal Nuclear Antigen*) è una DNA binding protein specifica espressa nei neuroni, presente nel sistema nervoso centrale e periferico. È una proteina localizzata nel nucleo e nel citoplasma dei neuroni nel loro stadio post-mitotico, quando si differenziano sia funzionalmente che morfologicamente. Fu descritta per la prima volta nel 1992 da Mullen (1) durante esperimenti su trapianti in cui venivano utilizzati diversi anticorpi murini, tra cui NeuN. Venne denominata *NeuN* in quanto l'antigene è maggiormente espresso nei nuclei che nei citoplasmi.

NeuN è importante perché fa parte di quelle proteine nucleari tessuto specifiche che legano il DNA (coinvolte nei meccanismi di trascrizione, riparazione, replicazione).

Nel caso particolare, l'antigene NeuN partecipa principalmente ai processi di maturazione e differenziazione neuronale post-mitotica.

Caratteristiche di NeuN:

- marca i neuroni maturi e funzionanti, mentre non è espresso nei neuroni immaturi e sofferenti;
- normalmente marca i nuclei (ed in misura minore citoplasmi, dendriti e assoni) di tutti i tipi cellulari neuronali, fatta eccezione per: cellule di Purkinje, nucleo olivare inferiore, nucleo dentato, cellule della glia (2);
- la sua espressione è precoce durante lo sviluppo fetale e persiste nell'adulto;
- più si procede nello sviluppo del sistema nervoso e maggiore è il numero di strutture positive.

Utilizzo più frequente di NeuN:

- Marcatore del malfunzionamento delle strutture cerebrali (2);

- Marcatore del grado di maturazione neuronale;
- Analisi quantitativa e semi-quantitativa del danno ischemico e dei diversi disordini neurodegenerativi.

Gli esiti del nostro lavoro hanno dimostrato che è possibile utilizzare l'analisi immunoistochimica di NeuN anche nella diagnosi della sindrome della morte improvvisa del lattante (Sudden infant death syndrome - SIDS) e della morte improvvisa fetale (Sudden Intrauterine Unexplained Death Syndrome - SIUDS), implementando il protocollo già in uso. Infatti, mentre si osserva una intensa positività di NeuN nei neuroni sani, si nota una diminuzione di segnale in neuroni del sistema nervoso autonomo con alterazioni di sviluppo. **Ipossia, asfissia ed ischemia** (fattori patogenetici nella SIDS) possono arrecare danno agli apparati cellulari che dunque risentono di una diminuzione di segnale (3-6). Bambini che hanno sofferto di tali disturbi nella vita fetale, mostrano una ridotta espressione di NeuN.

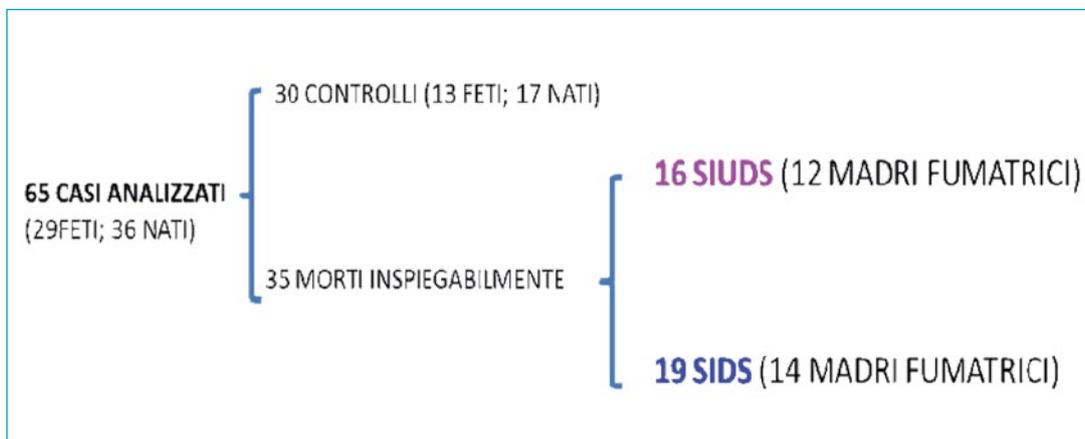
Dal punto di vista tecnico, per valutare se l'assenza di segnale NeuN è indice di degenerazione neuronale, possono essere eseguiti in parallelo i seguenti test immunoistochimici (IHC):

- TUNEL (Chemicon Apoptag S7100) come indice di apoptosi (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) (7,8);
- CASPASI 3 (Vector, VP-C308) come indice di morte cellulare (spesso infatti l'apoptosi si verifica anche senza attivazione delle caspasi e queste ultime possono attivarsi indipendentemente dall'apoptosi, portando ad altri tipi di morte cellulare) (9).

Nello schema seguente sono riportati i casi analizzati per questo studio:

Melissa F. Corna

Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano



PROTOCOLLO NeuN:

Vengono selezionate per ogni caso le sezioni più rappresentative del ponte caudale, previa osservazione al microscopio ottico delle corrispondenti sezioni in ematossilina-eosina, in quanto nella porzione ventrale è presente una vasta popolazione di neuroni (nuclei pontini). Le sezioni sono montate su vetrini silanizzati nel più breve tempo possibile per evitare diminuzione del segnale anticorpale. Come antigen retrieval si usa un tampone citrato pH 6.0 esclusivamente ad alte temperature. L'anticorpo scelto è un Mouse Monoclonal IgG NeuN clone A60 MW 46/48 kDa (Millipore, Chemicon International MAB377). Come sistema di rilevazione si è scelto un Avidin-biotin complex (Vector ABC Kit) (**tab.1**).

Osservazione al microscopio:

Ogni preparato così ottenuto viene osservato al microscopio ottico e il grado di positività di NeuN viene classificato in base a una scala da "negativo" a "fortemente positivo", come indicato nella **tab 2**.

Tabella 2

Valutazione del grado di positività dell'antigene NeuN

-	=	nessun neurone positivo (<i>negatività</i>)
-/+	=	un numero di neuroni debolmente positivi ≤ 30% (<i>positività debole</i>)
+	=	un numero di neuroni positivi ≤ 30% (<i>positività moderata</i>)
++	=	un numero di neuroni positivi > 30% (<i>positività forte</i>)

Tabella 1

Procedura per l'esame immunostochimico di NeuN

GIORNO 1	GIORNO 2
Xilolo 1 – 10' Xilolo 2 – 10'	PBS – 5'
Alcool 100 – 5' Alcool 95 – 3' Alcool 70 – 3'	Ab 2 (vector ABC mouse) – 20'
Acqua demineralizzata – 5'	PBS – 5'
PBS (Sigma tablet) – 5'	ABC (vector) – 20'
H ₂ O ₂ – 20'	PBS – 5'
PBS – 5'	DAB (vector) – 10'
Buffer citrato pH 6.0 3X4' microonde 600W	Acqua demineralizzata – 5'
PBS – 5'	Ematossilina Mayer - 10' Acqua corrente -10'
Anti-NeuN 1:100 +4°C over night	Alcool 70 – 2' Alcool 95 – 2' Alcool 100 – 5'
	Xilolo 3 – 10' Xilolo 4 – 10'

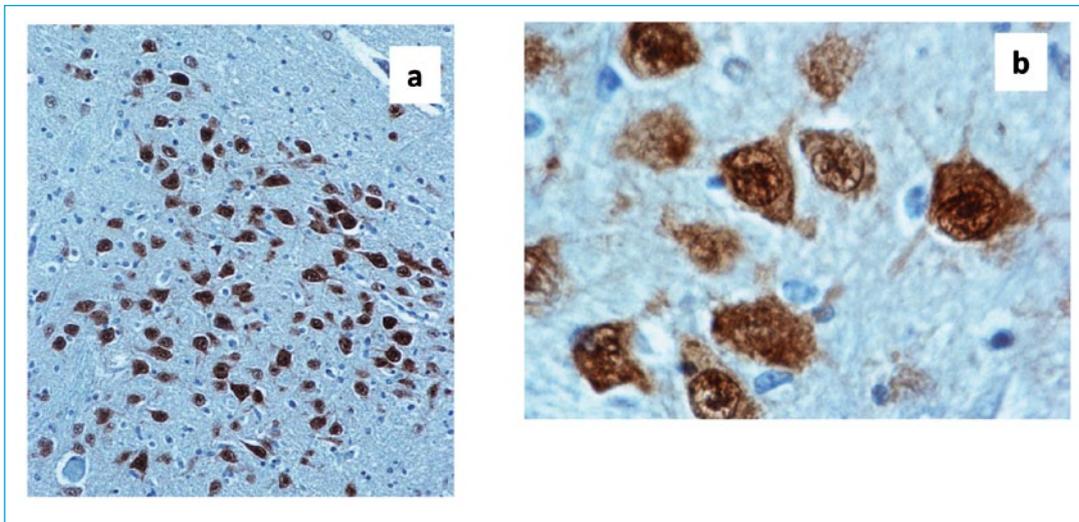


Figura 1

Forte immunopositività di NeuN (++) nei neuroni pontini di un caso controllo (feto di 36 settimane di gestazione). Ingrandimento a) 10x; b) 40x

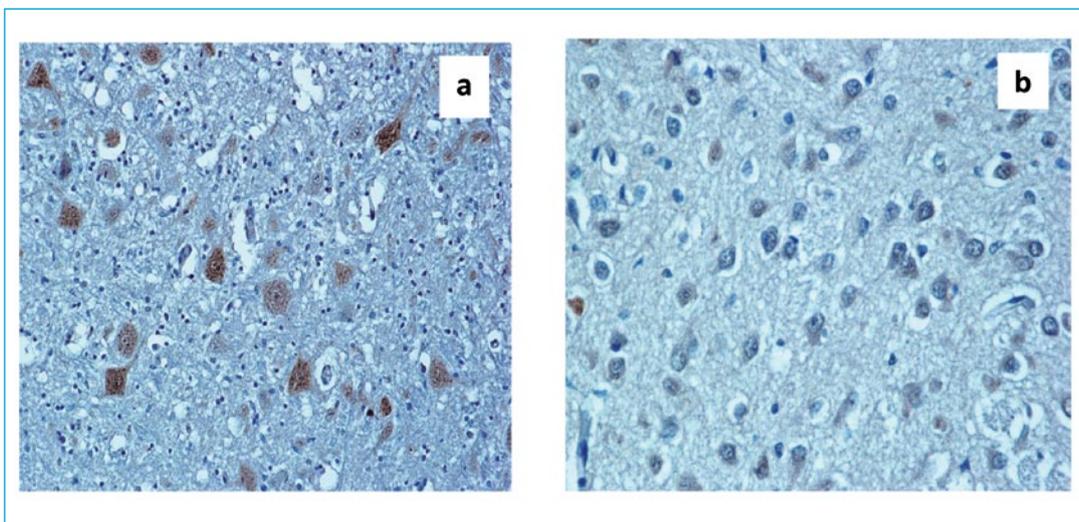


Figura 2

a) Debole immunopositività di NeuN (-/+) nei neuroni pontini di un caso di SIDS (3 mesi); b) Immunonegatività di NeuN (-) in un caso di SIDS (2 mesi). Ingrandimento a) e b) 20x

Risultati:

Nei casi controllo si è osservata un'alta incidenza di neuroni NeuN fortemente positivi (++) (**fig.1**).

In una elevata percentuale di vittime di SIUDS/SIDS invece l'espressività di NeuN risultava diminuita o del tutto assente (**fig.2**).

I neuroni in questi casi presentavano una struttura intatta, TUNEL e Caspasi 3 negativa. Aspetti apoptotici sono stati osservati solo a carico di interneuroni e cellule gliali. Il calo di espressione di NeuN nei casi di SIUDS/SIDS è risultato significativamente correlato al fumo di sigaretta in gravidanza (10).

Conclusioni

L'impiego dell'esame immunohistochimico di NeuN rappresenta uno strumento efficace per esaminare lo stato di maturazione e di differenziazione dei neuroni. Infatti, un'alterata espressione di questo antigene può indicare sofferenza e/o immaturità neuronale. L'inserimento di questa metodica nel protocollo di utilizzo di routine può fornire un elemento utile per un primo orientamento, sia pur aspecifico, verso la diagnosi di SIDS/SIUDS.

BIBLIOGRAFIA

1. Mullen RJ, Buck CR, Smith AM. NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates. *Development* 1992; 116: 201–211.
2. Sarnat HB, Nochlin D, Born DE. Neuronal nuclear antigen (NeuN): a marker of neuronal maturation in early human fetal nervous system. *Brain Dev* 1998; 20: 88–94.
3. Goldwater PN. Sudden infant death syndrome: a critical review of approaches to research. *Arch Dis Child* 2003; 88: 1095–1100.
4. Hunt CE. The cardiorespiratory control hypothesis for sudden infant death syndrome. *Clin Perinatol* 1992; 19: 757–771.
5. Krous HF, Beckwith JB, Byard RW, et al. Sudden infant death syndrome and unclassified sudden infant deaths: a definitional and diagnostic approach. *Pediatrics* 2004; 114: 234–238.
6. Kinney HC. Brainstem mechanisms underlying the sudden infant death syndrome: evidence from human pathologic studies. *Dev Psychobiol* 2009; 51: 223–233 [Review].
7. Ansari B, Coates PJ, Greenstein BD, Hall PA. In situ end-labelling detects DNA strand breaks in apoptosis and other physiological and pathological states. *J Pathol* 1993; 170: 1–8.
8. Huppertz B, Frank HG, Kaufmann P. The apoptosis cascade-morphological and immunohistochemical methods for its visualization. *Anat Embryol (Berlin)* 1999; 200: 1–18.
9. Thornberry NA. Caspases: a decade of death research. *Cell Death Differ* 1999; 6: 1023–1027.
10. Lavezzi AM, Corna MF, Matturri L. Neuronal nuclear antigen (NeuN): a useful marker of neuronal immaturity in sudden unexplained perinatal death. *Neurol Sci* 2013; 329: 45–50.

Campionamento e diagnostica patologica del sistema di conduzione cardiaco

La morte improvvisa e inaspettata di un bambino o di un feto rappresenta per i genitori una terribile tragedia, che segnerà per sempre le loro vite. È un problema multifattoriale e non riguarda solo i paesi sottosviluppati o in via di sviluppo.

Nonostante la presenza di svariate e controverse teorie, l'eziologia rimane tuttora incerta.

Il coinvolgimento del tessuto di conduzione cardiaco nella diagnosi di morte improvvisa è nota ormai da tempo (1-13). Ma, prima di parlare delle principali alterazioni del sistema di conduzione cardiaco nei feti e negli infanti, prendiamo un attimo in esame le strutture protagoniste della "centralina elettrica" del cuore.

Anatomia

del sistema di conduzione cardiaco

Nel miocardio comune c'è un sistema di particolari fibre muscolari, chiamato miocardio specializzato, in grado di creare e propagare gli impulsi per la contrazione muscolare. Il sistema di conduzione (SdC) è composto da fibre miocardiche modificate, con scarse miofibrille e abbondante glicogeno (per quello appaiono più pallide). Nel cuore umano, il sistema di conduzione cardiaco è costituito da queste strutture: il nodo seno-atriale o nodo di Keith-Flack (NSA), le vie internodali (superiore, media e posteriore), il nodo atrio-ventricolare (NAV) o nodo di Aschoff-Tawara, il fascio di His, la biforcazione e le branche destra e sinistra (**fig. 1**).

Donatella Mecchia

Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

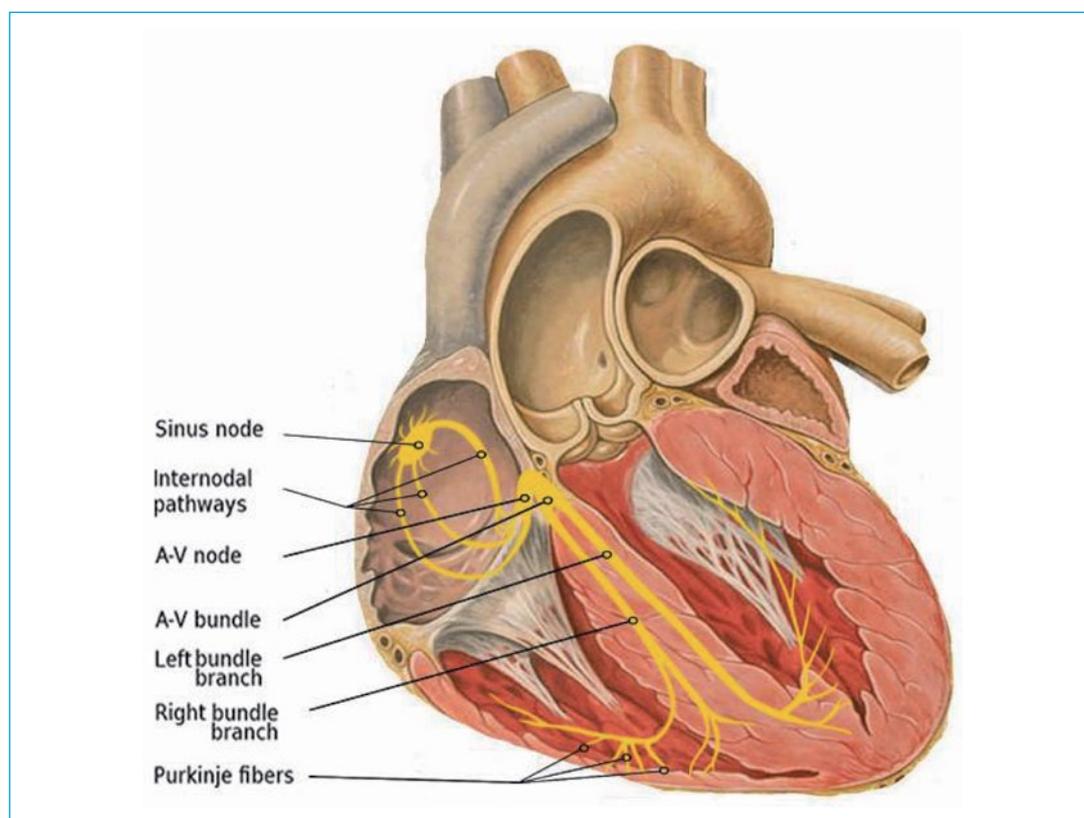


Figura 1

Calco di un cuore adulto con il sistema di conduzione cardiaco in evidenza

Il nodo seno-atriale o nodo di Keith-Flack

Nell'essere umano il nodo seno – atriale (NSA) è una formazione ovalare costituita da fibre miocardiche specializzate con interposizione di abbondante tessuto connettivo. Il nodo ha una localizzazione subepicardica e si trova nella parete posteriore dell'atrio destro, a

livello del terzo superiore della cresta terminalis, lungo il suo asse maggiore. La porzione più craniale raggiunge lo sbocco della vena cava superiore. La sua parte più superficiale è in stretto contatto con il tessuto adiposo subepicardico, mentre la parte più profonda si anastomizza col tessuto miocardico atriale. Il NSA è centrato dall'arteria del NSA. Le cellule

Figura 2

Cellule P, grandi, chiare e polipodi, di un nodo seno-atriale. Azan, 100 x

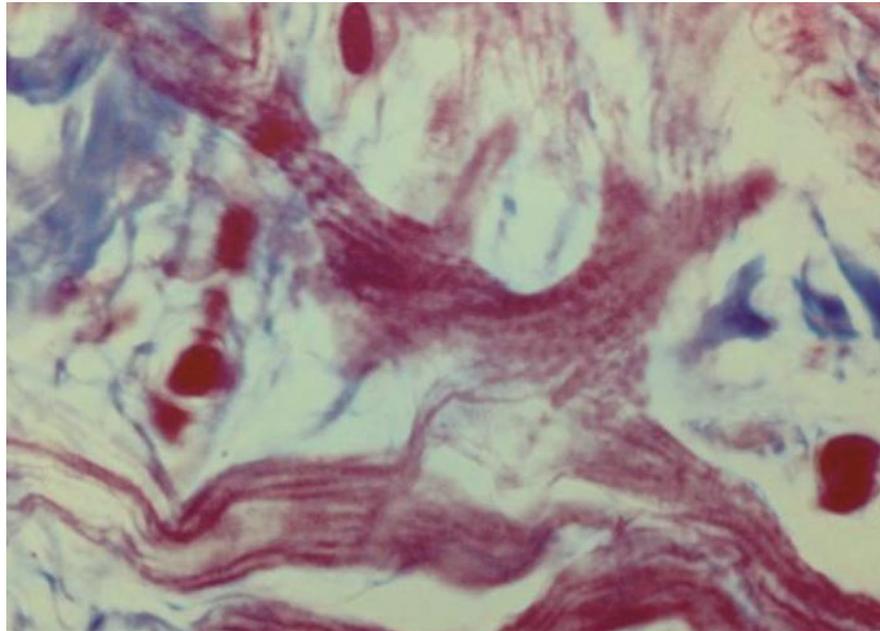
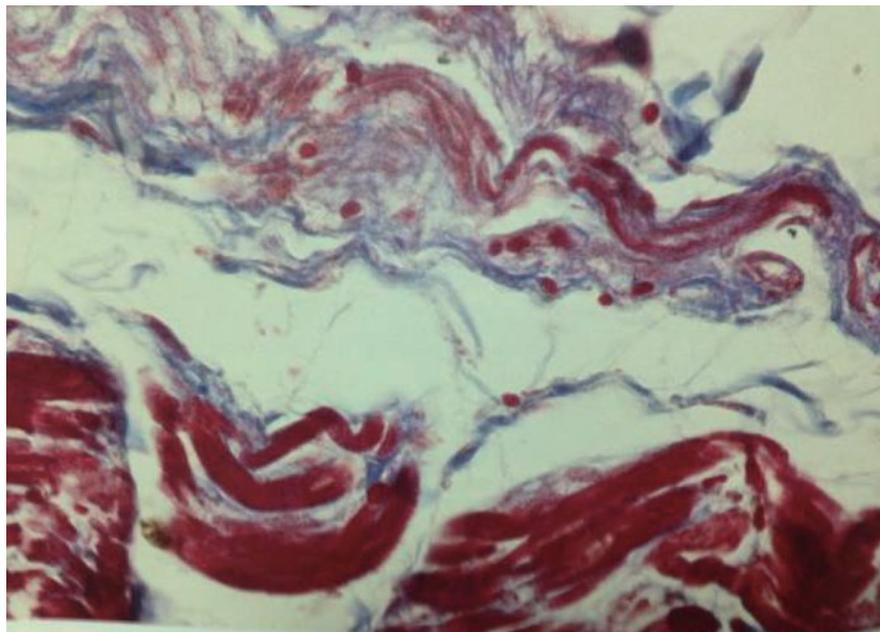


Figura 3

Cellule transizionali, sottili di un nodo seno-atriale. Azan, 50 x



miocardiche specializzate del NSA sono più piccole, chiare e con evidente striatura. Nella parte più centrale del nodo le cellule presentano anastomosi pluridirezionali, mentre alla periferia appaiono più sottili e tendono a decorere parallele fra loro. Lo stroma connettivale è ricco di fibre elastiche, fibre reticolari e collagene, e tende a disporsi in modo circolare attorno all'arteria del nodo (14-19).

Le cellule specializzate del NSA possono essere di quattro tipi:

- Cellule P (pacemaker): sono localizzate prevalentemente al centro del nodo e si presentano piccole, tondeggianti, con prolungamenti anastomizzati fra loro (**fig. 2**).
- Cellule transizionali: sono corte e sottili (cellule sottili), sono spesso in contatto con le cellule P. Le cellule sottili sono per lo più sparse nel nodo, ma prevalentemente in periferia. Alcune di queste cellule sfoccano anche nel miocardio atriale destro (**fig. 3**).
- Cellule del miocardio comune, con una colorazione più intensa rispetto alle cellule specializzate.

- Cellule di Purkinje: sono cellule più grandi e corte delle cellule del miocardio comune, con un caratteristico alone chiaro perinucleare.

La *vascolarizzazione del NSA* è assicurata dall'arteria atriale che decorre longitudinalmente al nodo. L'arteria atriale principale può avere tre origini: nella maggior parte dei casi dall'arteria destra del NSA (ramo dell'arteria coronaria destra), dall'arteria sinistra del NSA (ramo dell'arteria coronaria sinistra) e dall'arteria posteriore del NSA (ramo dell'arteria coronaria sinistra). Il NSA è stato descritto da James come una sorta di "enorme avventizia della propria arteria" (18). Il flusso ematico che irrorava il nodo ad ogni ciclo cardiaco sembra avere un effetto modulatore sull'attività cellulare di pacemaker. Modifiche sperimentali della pressione dell'arteria del NSA hanno significativi effetti sul pacemaker sinusale. Questa teoria è stata supportata dalla presenza di aritmie e morte improvvisa in soggetti con ispessimento dell'arteria del nodo (18) (**fig. 4**).

La *rete collagenica del NSA* dopo la nascita aumenta progressivamente fino all'età adulta.

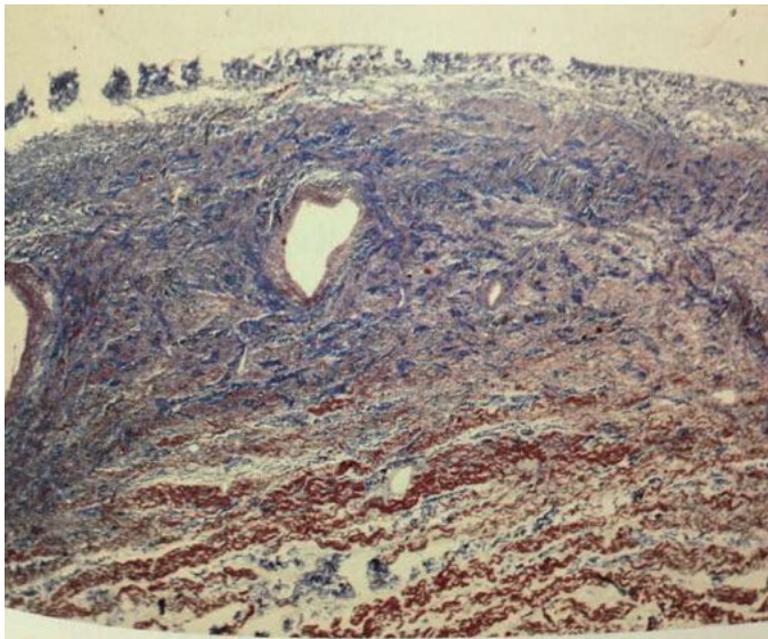


Figura 4

Ispessimento dell'arteria del nodo del seno. Arteria del nodo seno-atriale immersa in una fitta rete collagenica. Azan, 20 x

Inoltre il collagene separa piccoli gruppi di cellule, limitando così l'estensione dei contatti fra le stesse. Patologie che determinano alterazioni della rete collagenica sono associate ad aritmie (18). L'innervazione del NSA, sia adrenergica sia colinergica, è molto ricca.

Le vie internodali e interatriali

Fascicoli miocardici che collegano il NSA con il NAV sono stati descritti da diversi ricercatori (14, 15) e sono:

- tratto internodale anteriore di Bachmann-James;
- tratto internodale medio di Wenckebach;
- tratto internodale posteriore di Thorel.

James documenta queste vie internodali con immagini al microscopio ottico e al microscopio elettronico (cellule di Purkinje, cellule

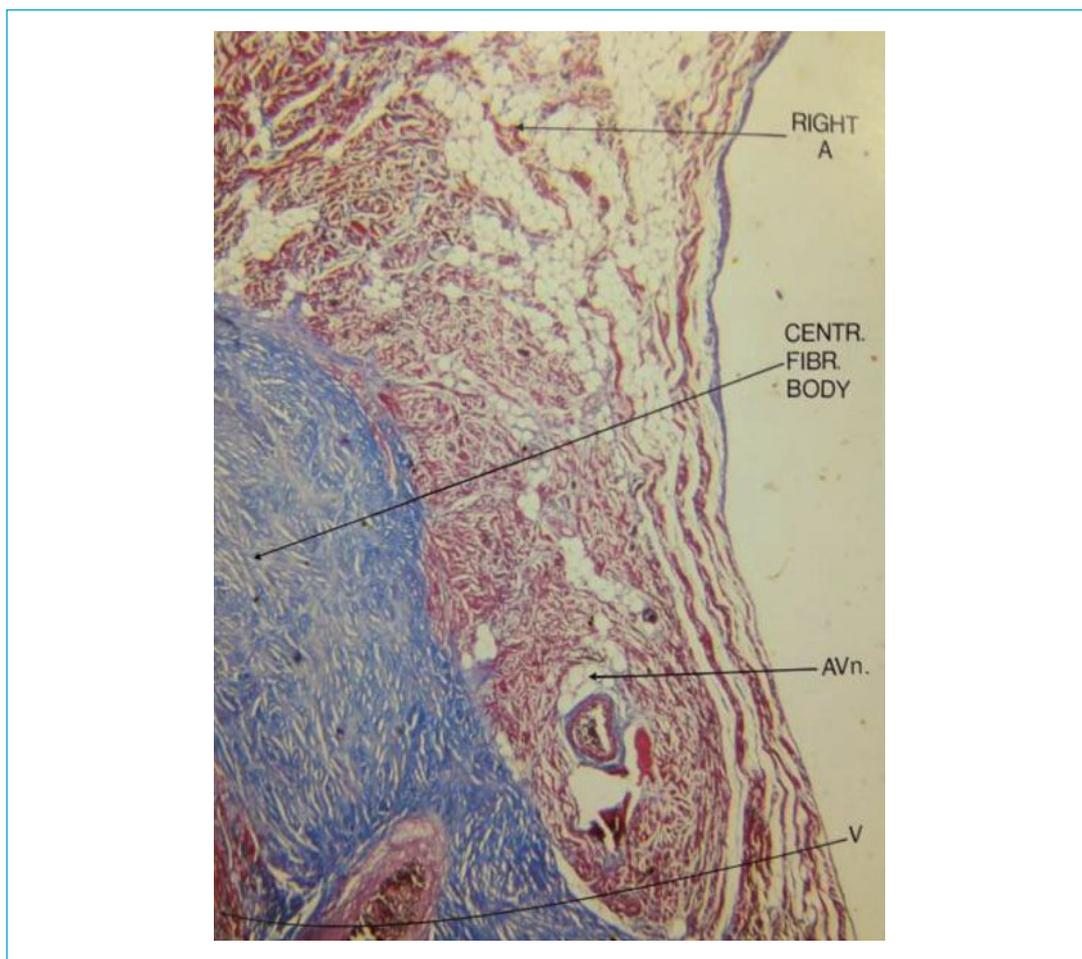
sottili, cellule P non nettamente separate dal miocardio comune).

Il nodo atrio-ventricolare (NAV)

Il NAV è una struttura ovalare localizzata nel subendocardio dell'atrio destro, adeso al corpo fibroso centrale e posto anteriormente rispetto all'ostio del seno coronarico. Le sue facce antero-superiore, laterale e postero-inferiore ricevono fibre dall'adiacente miocardio atriale. Anche il nodo atrio-ventricolare presenta cellule specializzate simili alle cellule del NSA, ma hanno per lo più un volume inferiore. Ha cellule come quelle del NSA, ma più piccole. Il colore del NAV è più chiaro rispetto alle fibre del miocardio comune atriale e le sue cellule si anastomizzano fra loro, attraverso corte ramificazioni pluridirezionali, creando una rete tridimensionale di collagene e fibre elastiche (fig.5).

Figura 5

Immagine istologica di un nodo atrio-ventricolare, nel subendocardio atriale, a stretto contatto col corpo fibroso centrale. RIGHT A: atrio destro; AVn: nodo atrio-ventricolare; V: ventricolo. Azan, 20 x



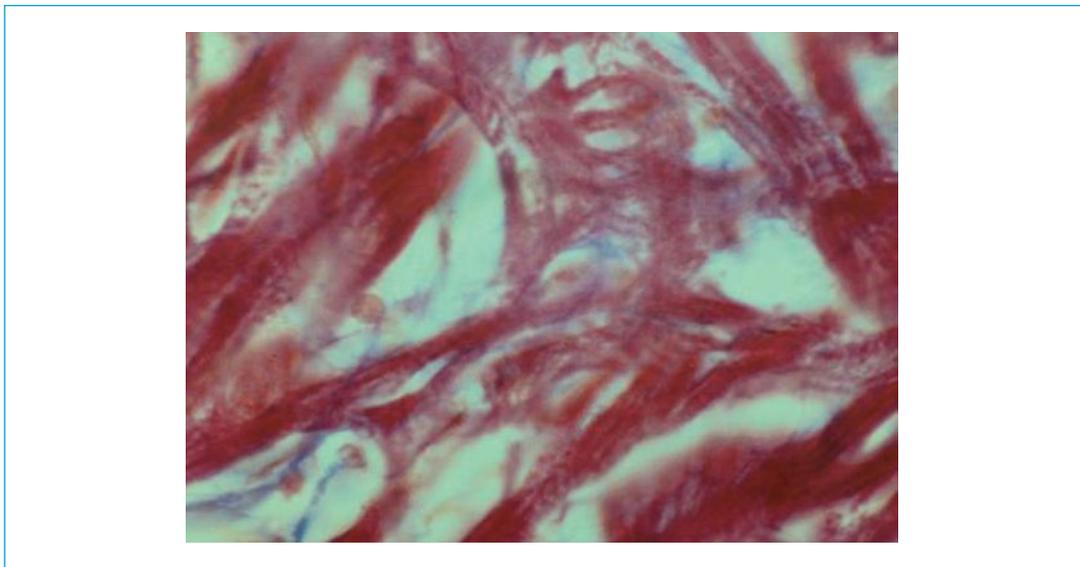


Figura 6

Cellule stellate atrio-ventricolari, simili a quelle del nodo seno-atriale. Azan, 100 x

James distingue quattro tipi cellulari nel NAV (17, 18):

1. Cellule P: sono localizzate per lo più nella porzione più profonda del NAV e sono meno numerose rispetto a quelle del NSA.
2. Cellule sottili: sono le cellule predominanti nel NAV (**fig. 6**). Si anastomizzano attraverso corte ramificazioni pluridirezionali (cellule stellate), che creano una rete tridimensionale frammista a collagene e fibre elastiche. Alcune cellule sottili sono localizzate nel setto interatriale, dove entra in contatto con le vie internodali (18).
3. Cellule del miocardio comune
4. Cellule di Purkinje, particolarmente nella periferia del NAV e nell'area compresa fra il NAV e l'endocardio dell'atrio destro.

Nel NAV c'è molto meno collagene rispetto a quello presente nel NSA. Il flusso ematico al NAV è garantito, nell'80% dei casi, dalla branca del setto fibroso, che è la prima branca perforante del setto (posteriore) dell'arteria coronaria destra. L'arteria del NAV penetra nel nodo nella porzione postero-inferiore e non si presenta centrale, come nel caso del NSA. L'arteria del NAV è solitamente eccentrica e in parte è inclusa nel corpo fibroso centrale (CFC). Il deflusso venoso è garantito da canali e sinusoidi nella parte superiore del nodo. Le vene drenano nel seno coronario o diret-

tamente in atrio destro (15). L'innervazione del NAV è meno rilevante rispetto a quella del NSA (14, 17, 19).

Il fascio di His

Il fascio di His penetra nella pars membranacea septi o viaggia attraverso il ventricolo mantenendosi alla destra della pars membranacea (**fig. 7**). La direzione che segue il fascio

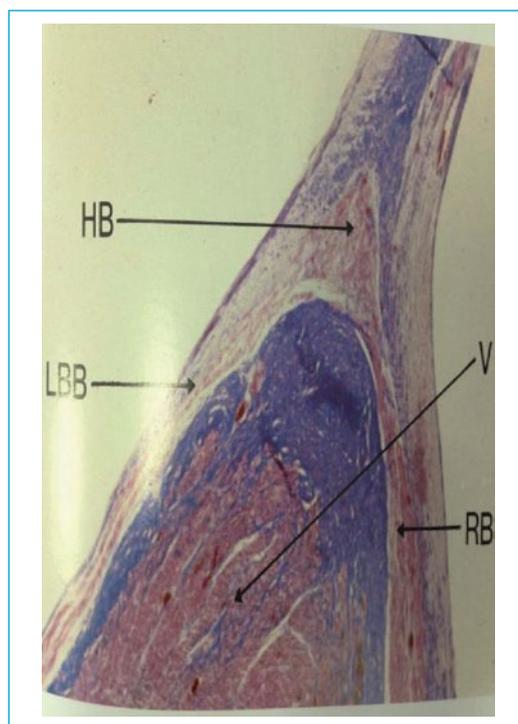


Figura 7

Normale biforcazione, a cavallo del setto interventricolare. HB: fascio di His; LBB: branca sinistra; RB: branca destra; V: ventricolo. Azan, 10 x

di His all'interno del CFC non è costante (generalmente alla base del CFC sulla destra, verso la cresta del setto interventricolare). Tuttavia non è rara una sua localizzazione centrale o a sinistra nel setto fibroso (15). La sezione del fascio di His generalmente ha una forma ovalare, ma può variare di caso in caso nelle diverse sezioni. A volte è difficile capire quando finisce il nodo atrio-ventricolare e quando inizia il fascio di His (20). Dal punto di vista istologico, le fibre appaiono più lunghe e con una disposizione più ordinata rispetto al NAV. La striatura trasversa è più evidente e i nuclei sono più piccoli. Normalmente la vascolarizzazione è garantita da arteriole che originano dal ramo del setto fibroso (arteria coronaria destra), ma può avere un contributo anche da branche della coronaria discendente anteriore (dall'arteria coronaria sinistra). L'innervazione è scarsa ed è caratterizzata da piccoli nervi che decorrono lungo i vasi.

La biforcazione

Raggiungendo la cresta del setto ventricolare, il fascio di His assume una forma prismatica e si suddivide in una branca destra e in una branca sinistra. Solitamente la biforcazione è localizzata alla destra del setto interventricolare, ma in alcuni casi si posiziona a sinistra. In rari casi poi la biforcazione non si dispone

“a cavaliere” del setto, ma all'estrema destra del miocardio ventricolare. In una ulteriore minoranza di casi, la biforcazione si presenta completamente intramurale, nel miocardio della porzione più prossimale del setto (9).

La branca destra

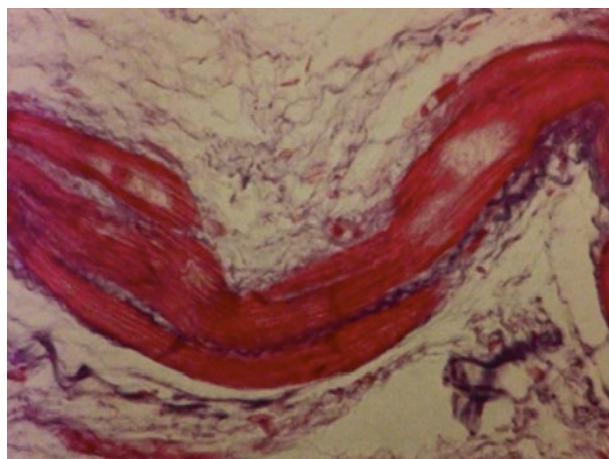
La branca destra appare quasi come il prolungamento del fascio di His. Ha un primo tratto subendocardico e tende poi a penetrare nel setto (tratto mimetico) per poi riportarsi subendocardica in prossimità del muscolo papillare anteriore della valvola tricuspide. Nell'uomo può riscontrarsi una variante anatomica caratterizzata da un primo tratto immediatamente murale e un secondo tratto subendocardico. Istologicamente parlando, il terzo superiore della branca destra ricorda molto la biforcazione, mentre il terzo medio ha caratteristiche simili al miocardio di lavoro (9, 14, 15). La branca destra è vascolarizzata da un ramo dell'arteria settale anteriore (arteria coronaria sinistra). Nella branca destra non si ritrovano nervi evidenti, ma solo fibre amieliniche a stretto contatto coi capillari.

La branca sinistra

La branca sinistra origina dal fascio di His e si presenta come un sottile nastro che decorre subendocardico alla sinistra del setto (**fig.8**).

Figura 8

Miocellule simili a cellule di Purkinje, con il classico alone chiaro perinucleare, di una branca sinistra. Azan, 50 x



È stata descritta una rara variante intramiocardica. Dal punto di vista istologico, la branca sinistra è molto ricca di cellule di Purkinje. Per quanto riguarda la vascolarizzazione: le ramificazioni anteriori e media da arterie perforanti anteriori (arteria coronaria sinistra); le ramificazioni posteriori da arterie perforanti posteriori (arteria coronaria destra). La branca sinistra, per la sua localizzazione subendocardica, è ossigenata anche per via trans-endocardica tramite il sangue circolante nel ventricolo (9, 14, 15). Per quanto concerne l'innervazione della branca sinistra, anche in questo caso al microscopio ottico si repertano solo fibre amieliniche (9, 14).

Il campionamento del sistema di conduzione cardiaco

In sede di autopsia, il cuore è rimosso nel modo usuale, ma avendo cura nel recidere i grossi vasi in stretta vicinanza alle riflessioni del pericardio; in particolare la vena cava superiore deve essere sezionata almeno un centimetro sopra il sacco pericardico. Si esegue un'incisione laterale verso la vena cava superiore senza resecare il ponte

intercavale. Il taglio "cava-cava", infatti, taglierebbe diagonalmente il NSA insieme alla cresta terminale. L'aorta va aperta sezionando la valvola aortica mitrale (come da nostro Protocollo Diagnostico, reperibile sul nostro sito internet http://users.unimi.it/centrolinorossi/protocollo_diagnostico.html) (figg. 9-10).

Campione 1: il nodo seno-atriale

Il campione 1 contiene il NSA, i suoi approcci atriali, la crista terminalis e i plessi gangliari del NSA. Il maggior punto di reperi per la sua rimozione è costituito dal sulcus-Crista Terminalis.

Due tagli longitudinali sono condotti paralleli alla linea del Sulcus-Crista, lungo la parete atriale, con un prolungamento mediale sul lato destro fino a raggiungere l'imbuto cavale superiore.

Dei due tagli trasversali, quello superiore è indirizzato a rimuovere il più possibile l'imbuto cavale, mentre quello inferiore rimuove, più o meno distalmente (a seconda del volume atriale), i muscoli pettinati che si dipartono dalla Crista Terminalis.

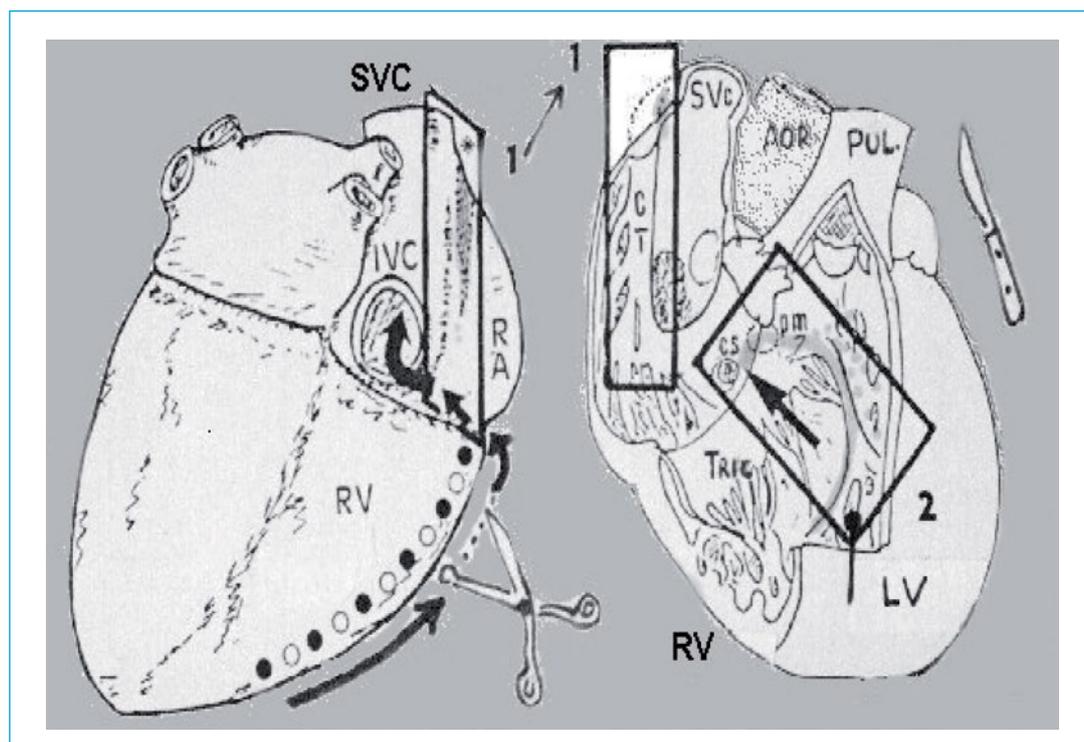


Figura 9

Localizzazione dei due prelievi per l'esame istologico, su sezioni seriate, del sistema di conduzione cardiaco. SVC: vena cava superiore; IVC: vena cava inferiore; RA: atrio destro; RV: ventricolo destro; LV: ventricolo sinistro; TRIC: valvola tricuspide; CT: cresta terminalis; AOR: aorta; PUL: polmonare; CS: seno coronario; PM: pars membranacea. 1. prelievo per il seno nodo-atriale; 2. prelievo per il nodo atrio-ventricolare

Campione 2: il nodo atrio-ventricolare

Contiene la giunzione atrio-ventricolare con i suoi approcci atriali. I punti di reperi sono, sul lato destro, lo sbocco del seno coronarico e la pars membranacea septi. Tenendo in mano il cuore, già aperto, ed esponendo il setto interventricolare contro una fonte luminosa, si può osservare una area transluminata rappresentata appunto dalla pars membranacea septi. Tenendo in riferimento quest'area, si procede a rimuovere il setto interventricolare insieme al corpo fibroso centrale, la parte inferiore del setto interatriale e gli adiacenti segmenti dell'anello fibroso atrio-ventricolare (AV).

I tagli devono essere condotti come segue:

1. un'incisione longitudinale inferiore attraverso la porzione posteriore del setto, attraverso l'anello AV, fino al margine superiore dell'ostio del seno coronarico;
2. un'incisione longitudinale anteriore, parallela alla precedente, attraverso la porzione superiore del setto, fino all'anello valvolare aortico;

3-4) due incisioni perpendicolari a 1) e 2), per rimuovere il tessuto, con il suo margine superiore (atriale-aortico) e il suo margine inferiore (apice ventricolare) passando intorno alla base del muscolo tricuspide mediale.

Dopo la sua rimozione, il campione 2 può essere rifinito, rimuovendo i lembi e le corde valvolari e il tratto inutile della parete aortica e dell'arteria polmonare, al di sopra della pars membranacea.

Entrambi i campioni vengono fissati in formalina tamponata neutra al 10%.

Nelle inclusioni in paraffina è consigliabile disporre in basso il margine mediale per il campione 1 e il margine postero-inferiore per il campione 2.

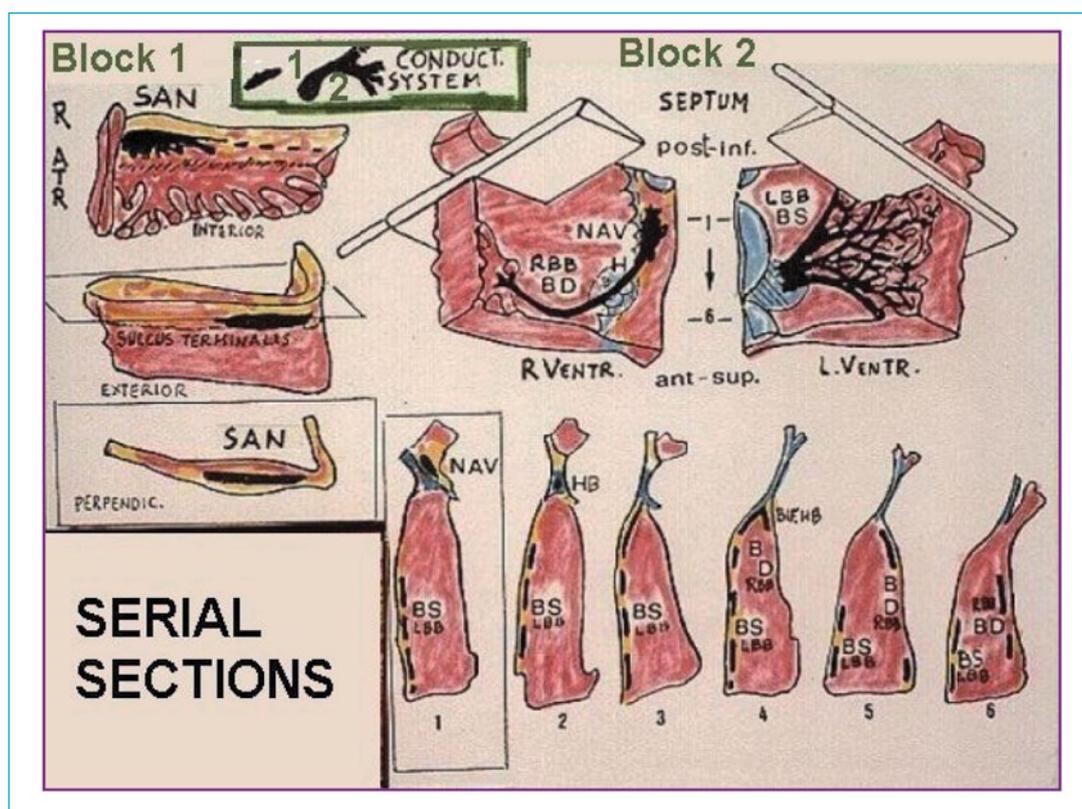
Per il campione 1 risulta un piano di sezione perpendicolare alla superficie atriale endocardica e parallela all'asse maggiore della Crista Terminalis.

Per il campione 2 risulta un piano di sezione perpendicolare a entrambe le superfici endocardiche, lungo l'asse maggiore del setto.

Figura 10

Illustrazione dei due prelievi e delle sezioni seriate che consentano la progressiva messa in evidenza dei componenti tissutali del sistema di conduzione.

NSA= nodo seno-atriale;
NAV= nodo atrio-ventricolare;
HB= fascio di His;
BS= branca sinistra;
BD= branca destra;
R ATR= atrio destro;
R VENTR= ventricolo destro;
L VENTR= ventricolo sinistro.



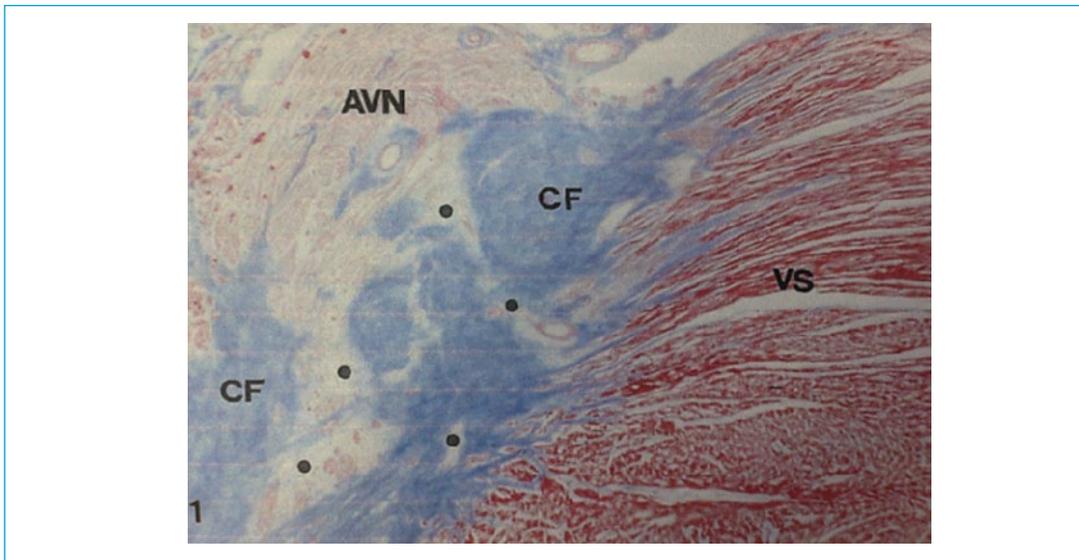


Figura 11

L'immagine mostra aree di degenerazione da riassorbimento, localizzate alla periferia del NAV e inclusi nel corpo fibroso centrale (•).

AVN: nodo atrio-ventricolare; CF= corpo fibroso centrale; VS: setto ventricolare. Azan, 20 x

Diagnosi istopatologica del sistema di conduzione cardiaco

Tra le alterazioni riscontrate post-mortem nelle piccole vittime di morte improvvisa del lattante, perinatale e in utero sono molto suggestive quelle a carico del sistema di conduzione cardiaco (11, 21). Le strutture del tessuto di conduzione cardiaco, in particolare il NAV e il fascio di His, vanno incontro ad una considerevole trasformazione morfologica, definita da James "resorptive degeneration" o degenerazione da riassorbimento, costituita da aree di degenerazione, morte cellulare e conseguente fibrosi (1, 21). Anche se le stesse alterazioni sono state riscontrate anche nei controlli, James ipotizzò che tale rimodellamento potesse essere messo in relazione ad aritmie cardiache o blocchi cardiaci responsabili della morte in culla (1). Similmente a James, abbiamo osservato "resorptive degeneration" anche nei feti e nei neonati, sebbene in minore quantità rispetto ai lattanti (21). Di seguito si elencano le alterazioni che più frequentemente possiamo osservare, al microscopio ottico, in sede di diagnosi.

Degenerazione da riassorbimento

Come anticipato in precedenza, il NAV e il fascio di His subiscono delle profonde modi-

ficazioni strutturali nel periodo post-natale (degenerazione da riassorbimento).

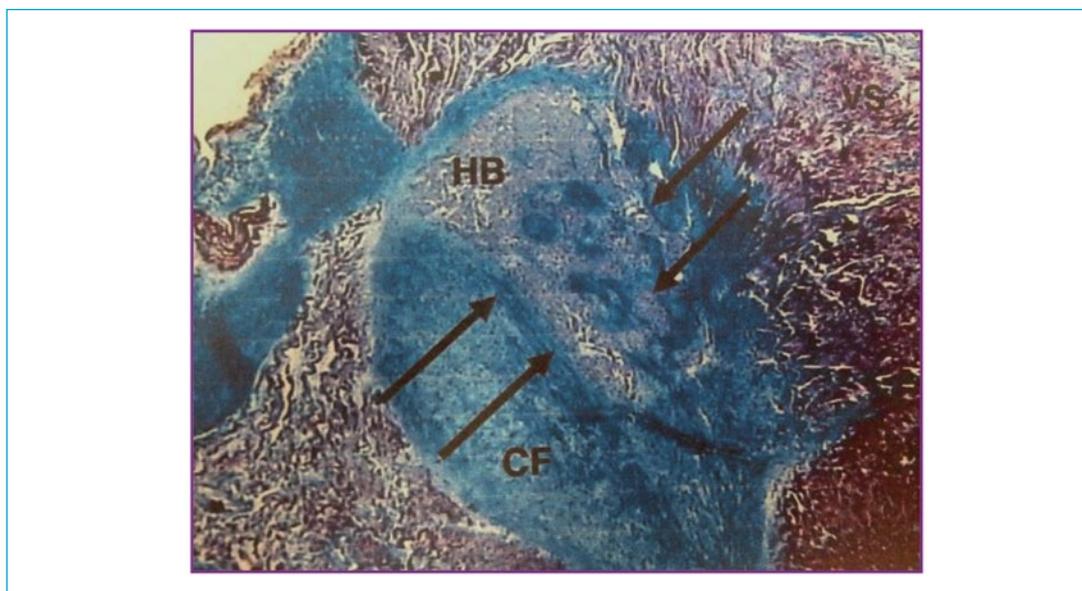
Le aree interessate da questo rimaneggiamento sono caratterizzate dalla presenza di clusters di giovani fibroblasti che depositano collagene, senza risposta infiammatoria né necrosi o emorragia (1) (fig. 11). Questo processo inizia 1-2 settimane dopo la nascita e si considera concluso entro il primo anno di vita (9). Questo fenomeno viene considerato fisiologico, ma diviene fonte di comunicazioni anomale fra la giunzione AV e il miocardio comune, e quindi base per aritmie patologiche, nel caso in cui il processo diventi esagerato (8, 11, 22).

Dispersione e/o settazione del nucleo atrio ventricolare e/o del fascio di His

La dispersione o la settazione del NAV e/o del fascio di His è caratterizzata dalla frammentazione del tessuto specializzato all'interno del corpo fibroso centrale (9). Le conseguenze di questa alterazione possono essere rappresentate da un rallentamento intrahissiano dell'impulso di conduzione, aumento dell'automatismo, blocco parossistico dell'impulso, aritmie ventricolari e morte improvvisa (23). Il fascio di His settato differisce dal fascio di His disperso per l'interposizione di tessuto fibroso del corpo

Figura 12

Isole di tessuto di conduzione separate dal NAV e incluse nel corpo fibroso centrale (freccie). HB: fascio di His; CF: corpo fibroso centrale. Azan, 20x



fibroso centrale nel suo interno anziché per la dispersione del tessuto di conduzione sotto forma di isole nel corpo fibroso centrale (fig. 12). Tale differenza è spesso minima e i casi di NAV e/o fascio di His disperso e/o settato per lo più vengono riuniti in un unico gruppo (21, 24). La biforcazione settata, invece, è stata riportata come biforcazione anomala (11). Le conseguenze di questa alterazione potrebbero essere un frazionamento della trasmissione dell'impulso, un rallentamento della velocità di conduzione con fenomeni

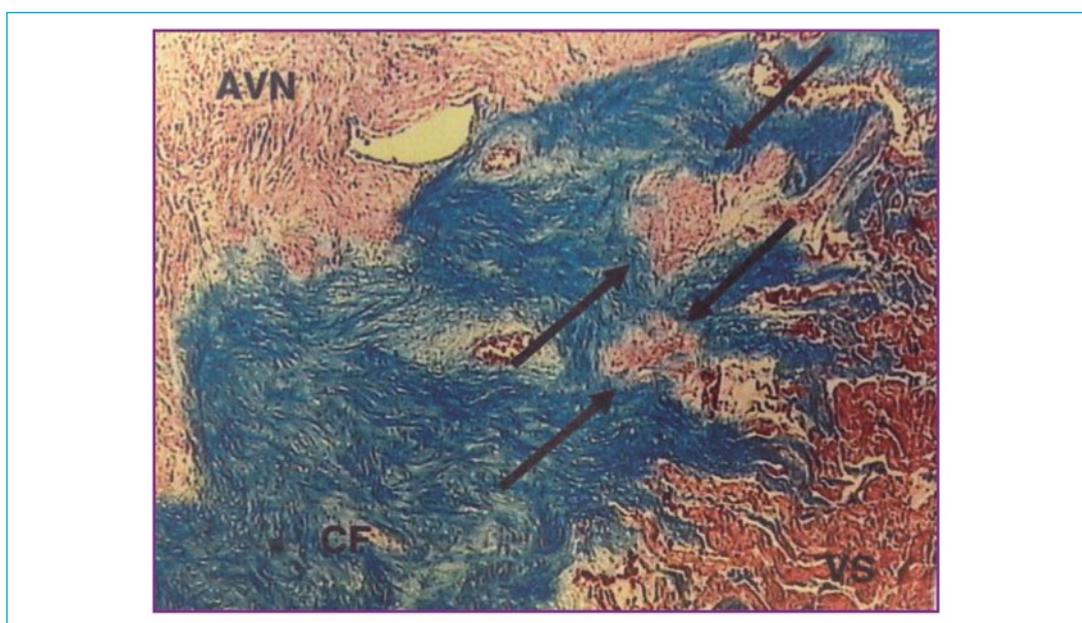
di rientro, aumentato automatismo, aritmie ventricolari e morte improvvisa (25, 26).

Isole di tessuto di conduzione nel corpo fibroso centrale

Le isole di tessuto di conduzione nel corpo fibroso centrale (CFC), designate come "persistente dispersione fetale", sono state descritte come isole di tessuto di conduzione separate dal NAV e dal fascio di His, disperse nel CFC, simili al normale pattern fetale (fig. 13) (17, 23, 26). È stato proposto da

Figura 13

Isole di tessuto di conduzione separate dal NAV e incluso nel CFC (freccie). Azan, 20x



James che queste isole potrebbero essere un substrato anatomico per vie di rientro, dissociazione della conduzione e tachicardie parossistiche (18). Se tali isole sono separate dal NAV o dal fascio di His, ma rimangono attaccate alla cresta del setto interventricolare, potrebbero favorire la loro funzione di foci anomali di automatismo.

Le vie accessorie

È noto che, in un cuore normale, l'unico collegamento muscolare atrio-ventricolare avviene per mezzo del sistema di conduzione. Tuttavia, in un certo numero di casi, si segnalano connessioni AV anomale e/o accessorie (fig. 14). Fra le principali, ricordiamo:

1. i fasci di Kent: connettono l'atrio al ventricolo, bypassando completamente il NAV. In questo modo si creano due vie di conduzione, che possono determinare sindrome da pre-eccitazione ventricolare e fibrillazione ventricolare;
2. le fibre di James: connettono indirettamente l'atrio al ventricolo attraverso l'in-

termediazione del sistema di conduzione giunzionale (fascio di His);

3. le fibre di Mahaim: connettono direttamente il tessuto giunzionale con il miocardio ventricolare. Si possono distinguere fibre di Mahaim alte (nodo-ventricolari), medie (fascicolo-ventricolari) e basse (biforcuto-ventricolari).

Le fibre di Mahaim

Le fibre di Mahaim rappresentano le vie accessorie che più comunemente si repertano nelle morti improvvise esaminate. Quando il processo di degenerazione da riassorbimento viene meno o rallenta, alcune fibre periferiche del sistema di conduzione rimangono connesse al tessuto miocardico comune del setto interventricolare, configurando le cosiddette fibre di Mahaim (fig. 15). Queste fibre, sotto particolari condizioni e/o stimoli neurovegetativi, possono causare aritmie giunzionali potenzialmente maligne (11, 21).

Come già specificato sopra, si distinguono tre varianti di fibre di Mahaim:

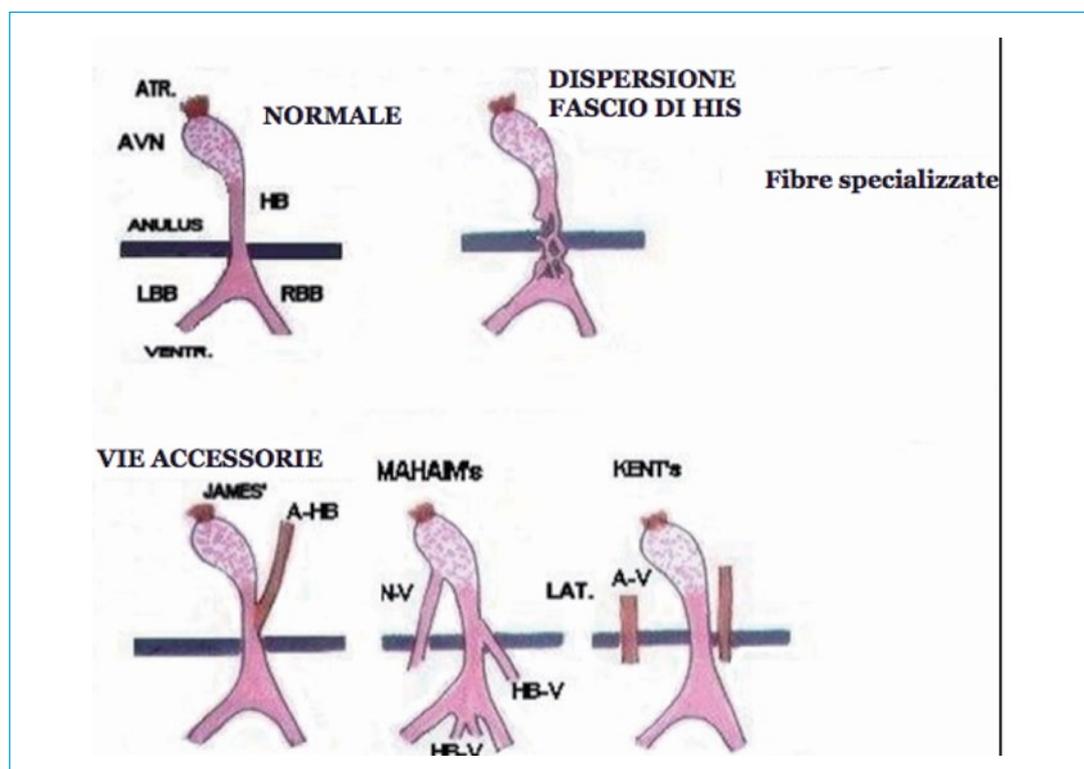
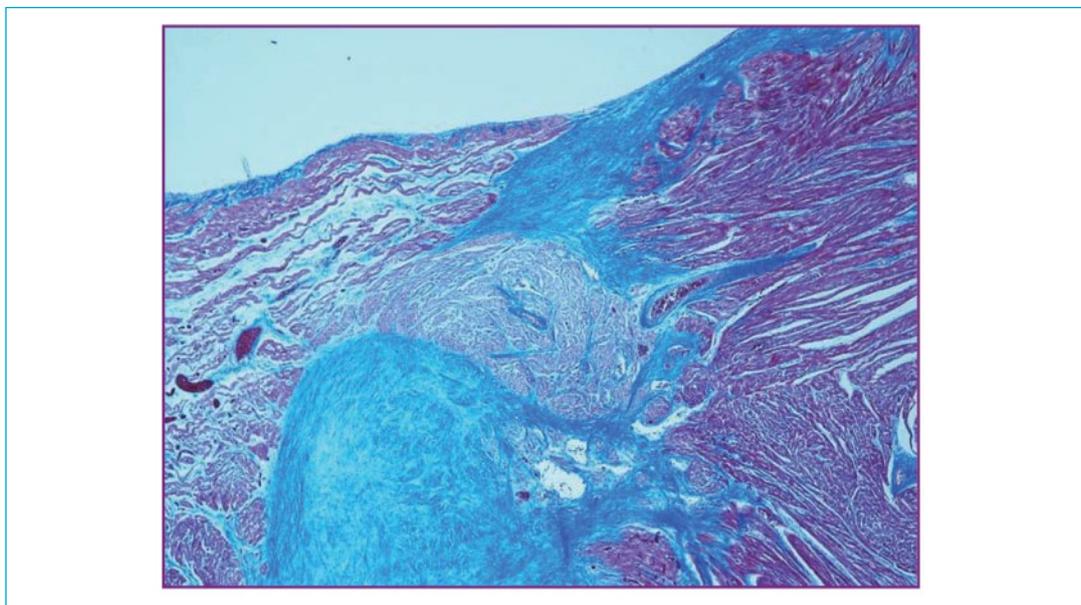


Figura 14

Rappresentazione anatomica della giunzione AV, con le vie normali e accessorie. ATR: atrio; AVN: nodo atrio-ventricolare; LBB: branca sinistra; RBB: branca destra; HB: fascio di His; A-HB: atrio-His; N-V: nodo-ventricolare; HB-V: fascio di His-ventricolo

Figura 15

Fibra di Mahaim alta (nodo-ventricolare), che mette in comunicazione direttamente il nodo atrio-ventricolare e il miocardio ventricolare.. Azan, 10 x



fibra di Mahaim alta o nodo-ventricolare, che collega il NAV con il miocardio ventricolare;

- fibra di Mahaim media o fasciculo-ventricolare, che collega il fascio di His con il ventricolo;
- fibra di Mahaim bassa o biforco-ventricolare, che collega la biforcazione con il ventricolo.

Le fibre di Mahaim possono anche essere multiple in uno stesso soggetto.

Meta-iperplasia cartilaginea del corpo fibroso centrale

Il corpo fibroso centrale (CFC) nel cuore umano adulto è una struttura di collagene denso, mentre nel lattante e nel feto è composto da sostanza più soffice e quasi del tutto gelatinosa (15, 27). Dal momento che il NAV giace sul CFC e il fascio di His vi è posto al suo interno, entrambi sono a rischio, quando è presente una patologia del CFC (11, 21). Sembra che un trigono fibroso con metaplasia cartilaginea possa provocare una compressione sul fascio di His e sul sistema di conduzione (Fig. 16). I fibroblasti del CFC sembrano avere una natura multipotenziale, sebbene la relazione funzionale di questa alterazione rimane tuttora ignota. In circostanze normali essi producono collagene denso che è carat-

teristico dell'annulus mitralico adulto e del setto membranoso interventricolare. Tuttavia vi sono esempi di cartilagine, o talora osso, qualora i fibroblasti diventino iperattivi fino a creare una trasformazione metaplastica, producendo cartilagine anziché collagene (11).

Dualismo del NAV e/o del fascio di His

Lo sdoppiamento del NAV e/o del fascio di His potrebbero rappresentare un substrato morfologico di aritmie maligne. Potrebbe, infatti, verificarsi una dissociazione longitudinale della struttura nodale in due distinte vie a diversa velocità di conduzione. Quella più lenta presenterebbe un periodo refrattario effettivo più breve, emergendo soltanto quando si blocca la conduzione della via rapida, potendo così dar luogo a tachicardia parossistica sopraventricolare rientrante (11, 21).

Iperplasia fibromuscolare delle arterie del sistema di conduzione cardiaco

L'iperplasia fibromuscolare o displasia del NSA e/o del NAV è stata descritta come una delle cause di morte improvvisa nei giovani e negli adulti (23, 28, 29). Gli autori hanno ipotizzato che questi ispessimenti potessero causare ischemie nel sistema di conduzione



Figura 16

Ipermetaplasia cartilaginea del corpo fibroso centrale (freccie), che comprime il fascio di His. HB: fascio di His; VS: setto ventricolare. Azan, 20 x

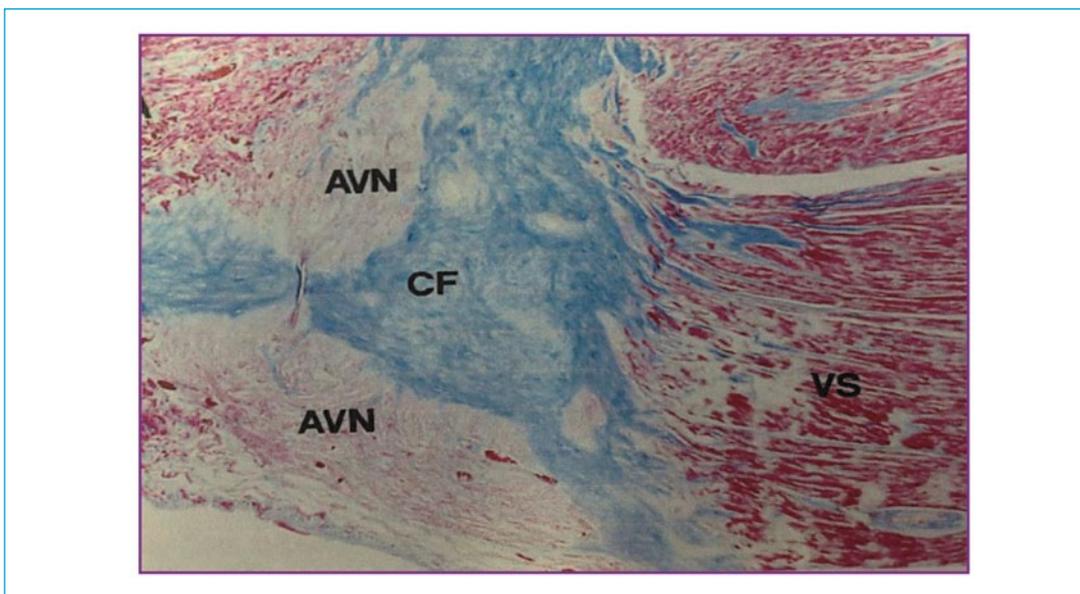


Figura 17

Il NAV appare suddiviso in due porzioni dall'interposizione di tessuto fibroso del CFC. A: atrio,; VS: setto ventricolare. Azan, 20 x

con conseguente aritmia e blocco cardiaco. Tali ispessimenti aterosclerotici precoci delle arterie nodali del sistema di conduzione, riscontrati sia in casi di morte fetale sia di morte in culla, sono risultati correlati al fumo di sigaretta materno e sono quasi sempre accompagnati da ispessimento coronarico di vario grado, caratterizzato da ispessimento miointimale con scarsi depositi lipidici, rari monociti e frammentazione delle fibre elastiche (**fig. 18**) (30, 31).

Emorragie del sistema di conduzione

Generalmente si parla di emorragia del sistema di conduzione quando sono presenti globuli rossi negli spazi intercellulari (32). A volte è difficile distinguere fra un'emorragia giunzionale incorsa in vita o nel periodo post-mortale, successivo a manovre di rianimazione. Infatti, considerando che molti dei nostri casi di morte improvvisa sono stati sottoposti a manovre risuscitative d'emergenza, incluso il massaggio cardiaco

Figura 18

Ispessimento miointimale, con sovrapposizione della tunica media e frammentazione delle cellule muscolari lisce, che tendono ad infiltrare l'intima. Azan, 20 x

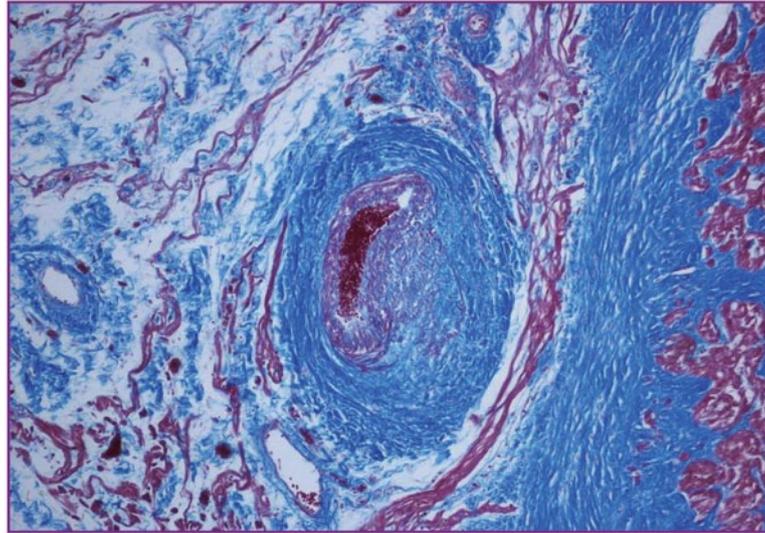
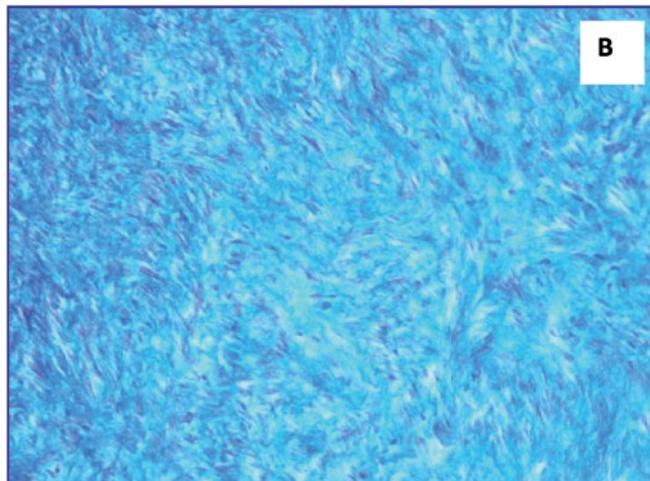
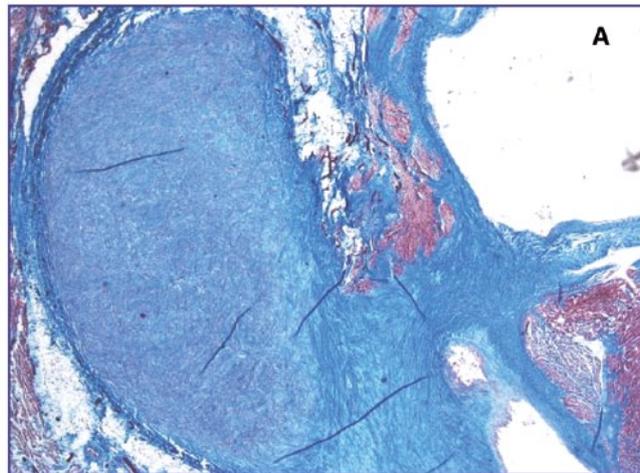


Figura 19

Fibroma cardiaco in corrispondenza del fascio di His. Prolifera non capsulata di fibroblasti con nuclei regolari e abbondante rete collagenica e fibre elastiche, che dissociano e intrappolano alcuni miociti. A) Azan 20x; B) Particolare del fibroma, Azan 60 x



esterno, è probabile che l'emorragia sia un fenomeno post-mortale. Ematomi del tessuto giunzionale causati da insulto durante le manovre rianimatorie sono già stati descritti in letteratura, sottolineando la pericolosità del massaggio cardiaco esagerato o inaccurato (33, 34).

Compressione estrinseca del nodo atrio-ventricolare

Ci sono poi rari casi in cui il sistema di conduzione cardiaco subisce compressioni ab-estrinseco da parte di masse tumorali. I tumori cardiaci primitivi sono molto rari e sono più frequenti nei feti che nei nati (35-37). Il fibroma cardiaco è il secondo tumore cardiaco più frequente nei bambini, dopo il rhabdomioma, e origina per lo più dal setto interventricolare e dalla parete libera del ventricolo (38, 39). Il tumore è composto da fibroblasti, tessuto connettivale denso e qualche piccola cellula miocardica (fig.19) (39). I tumori cardiaci intramurali sono spesso associati a disordini del ritmo, soprattutto nei bambini (40). È, infatti, verosimile che la compressione estrinseca del fibroma sul sistema di conduzione possa causare turbe del ritmo e blocco cardiaco (41, 42).

Alterazioni più rare: fascio di His spostato a sinistra, branca intramurale, ipoplasia del nodo seno-atriale e/o del corpo fibroso centrale

Il fascio di His spostato a sinistra sembrerebbe essere più frequente nei casi di morte improvvisa del lattante (Sudden infant death syndrome - SIDS) (43), ma alcuni autori depongono invece a favore di una variante anatomica (44).

Il riscontro di *branca destra intramurale* è considerata una normale variazione di sede della branca (21), mentre la *branca sinistra intramurale* sembra essere più vulnerabile per il suo minore rifornimento nutritivo arterioso (44).

Ipoplasia del NSA e del CFC sembrano dovute ad un arresto o ad un difetto di sviluppo del

sistema di conduzione, piuttosto che ad un attivo processo degenerativo (13, 21).

Conclusioni

Le importanti alterazioni del sistema di conduzione osservate possono configurare substrati anatomopatologici per aritmie maligne e per morte improvvisa aritmogena, a sostegno dell'ipotesi cardiaca di un meccanismo aritmogeno dell'exitus. Grazie al miglioramento delle cure materno-fetali si è assistito ad una riduzione significativa della mortalità perinatale, ma rimane tuttora un problema rilevante. Per ottenere un'adeguata diagnosi epicritica, sia nei casi di morte fetale che di SIDS, è necessario poter affrontare ogni genere di indagine clinica, anatomo-patologica, tossicologica e genetica. Il riscontro diagnostico, volto anche allo studio dettagliato della placenta, del sistema nervoso autonomo e del sistema di conduzione cardiaco, è essenziale per dare una risposta ai genitori, devastati da questa triste esperienza rappresentata dalla morte del proprio bambino, ma anche per cercare di risolvere il dubbio diagnostico dei colleghi e/o dell'autorità giudiziaria. Purtroppo però l'esame completo del sistema di conduzione cardiaco e del sistema nervoso autonomo richiede moltissime sezioni seriate e personale dedicato altamente qualificato.

BIBLIOGRAFIA

1. James TN. Sudden death in babies: new observation in the hearth. *Am J Cardiol* 1968; 22: 479- 506.
2. Anderson WR, Edland JF, Schenk EA. Conducting system changes in the sudden infant death syndrome. *Am J Pathol* 1070; 59: 35a, Abstract.
3. Ferris JAJ. Hypoxic changes in conducting tissue of the hearth in sudden death in infancy syndrome. *Br Med J* 1973; 2: 23-25.
4. Anderson RH, Bouton J, Burrow CT, Smith A. Sudden death in infancy: a study of cardiac specialized tissue. *Br Med J* 1974; 2: 135- 139.
5. Lie JT, Rosenberg HS, Erickson EE. Histopathology of the conduction system in the sudden infant death syndrome. *Circulation* 1976; 53: 3-8.
6. Valdès- Dapena M. Are some crib deaths sudden cardiac deaths? *J Am Coll Cardiol* 1985; 5: 113B- 117 B.
7. Tames TN. Crib death. *J Am Coll Cardiol* 1985; 5: 1185- 1187.
8. Ottaviani G, Ramos SG, Maturri L. Defective "resorptive degeneration" of the hearth's conduction system and sudden infant death syndrome. *Ann Esp Ped (Suppl)* 1997; 92: 53, Abstract.
9. Rossi L, Maturri L. Clinicopathological approach to cardiac arrhythmias: a color atlas, Turin: Centro Scientifico Torine, 1990.
10. Suàrez- Mier MP, Aguilera B. Histopathology of the conduction system in sudden infant death. *Forensic Sci Int* 1998; 93: 143- 154.
11. Maturri L, Ottaviani G, RamosSG, Rossi L. Sudden infant death syndrome (SIDS): a study of cardiac conduction system. *Cardiovasc Pathol* 2000; 9: 137- 145.
12. Maturri L, Ottaviani G, Benedetti G, Agosta E, Lavezzi AM. Unexpected perinatal death and sudden infant death syndrome (SIDS): anatomo-pathological and legal aspects. *Am J Forensic Med Pathol* 2005; 25: 155- 160.
13. Ottaviani G, Maturri L. Histopathology of the cardiac conduction system in sudden intrauterine unexplained death. *Cardiovasc Pathol* 2008; 17: 146- 155.
14. Rossi L, Maturri L, Lotto A. Cardiac conduction blocks and pacemaking. An anatomoclinical color atlas. *Clas International*, Brescia, Italy 1988.
15. Rossi L. Histopathologic features of cardiac arrhythmias. Casa Editrice Ambrosiana, Milan, Italy 1969.
16. Keith A, Flack MW. The auricular-ventricular bundle of the human heart. *Lancet* 1906; 2: 359- 364.
17. James TN. The Mikamo lecture. Structure and function of Av junction. *Jap circul J* 1983; 47: 1- 47.
18. James TN. Cardiac conduction system: fetal and post-natal development. *Am J Cardiol* 1970; 25: 213- 226.
19. Ghidoni P, Giudici E, Maturri L, Rossi L. Extranodal specialized sinoatrial cells. *Anal Quant Cytol Histol* 1986; 8: 255-258.
20. Valdès- Dapena MA, Greene M, Bensavanand N, Catherman R, Truex RC. The myocardial conduction system in sudden death in infancy. *N Eng J Med* 1973; 289: 1179-1180.
21. Ottaviani G, Maturri L, Rossi L, James TN. Crib death: further support for the concept of fatal cardiac electrical instability as the final common pathway. *Int J Cardiol* 2003; 92: 17- 26.
22. Rossi L, Maturri L. Anatomohistological features of sudden infant death. *New trends arrhythmias* 1991; 6: 135- 142.

23. James TN, Marshall TK. De subitaneis mortibus. XVIII. Persistent fetal dispersion of the atrioventricular node and His bundle within the central fibrous body. *Circulation*, 1976; 53: 736- 742.
24. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM. Techniques and criteria in pathologic and forensic-medical diagnostics of sudden unexpected infant and perinatal death. *Am J Clin Pathol* 2005; 124: 259- 268.
25. Bharati S, Lev M. Congenital abnormalities in the conduction system in sudden death in young adults. *J Am Coll Cardiol* 1986; 8: 1096- 1104.
26. Suàrez- Mier P, Gamallo C. Atrioventricular node fetal dispersion and His fragmentation of the cardiac conduction system in sudden cardiac death. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1885- 1890.
27. Rossi L. The pathologic basis of cardiac arrhythmias. *Cardiol Clin* 1983; 1: 13- 37.
28. James TN, Froggat P, Marshall TK. Sudden death in young athletes. *Ann Int Med* 1967; 67: 1013- 1021.
29. James TN. Congenital disorders of cardiac rhythm and conduction. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1993; 4: 702- 718.
30. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM, Rossi L. Early atherosclerotic lesions of the cardiac conduction system arteries in infants. *Cardiovasc Pathol* 2004; 13: 276- 281.
31. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM. Early atherosclerotic lesions in infancy: role of parental cigarette smoking. *Virchows Arch* 2005; 447: 74- 80.
32. Anderson RH, Bouton J, Burrow CT, Smith A. Sudden death in infancy: a study of cardiac specialized tissue. *Br Med J* 1974; 2: 135- 139.
33. Maturri L, Ottaviani G, Rossin L. External cardiac massage in infants. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1199-1200.
34. Ottaviani G, Rossi L, Maturri L. Myocardial injury attributable to external cardiac massage in infants. *Cardiology* 2005; 1: 25- 29.
35. Yamaguchi M, Hosokawa Y, Ohashi H, Imai M, Oshima Y, Minami K. Cardiac fibroma: long term fate after excision. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;103:140-5.
36. Holley DG, Martin GR, Brenner JL. Diagnosis and management of fetal cardiac tumors: a multicenter experience and review of published reports. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 516-20.
37. Uzun O, Wilson DJ, Vujanic GM, Parsons JM, De Giovanni JV. Cardiac tumors in children. *Orphanet J Rare Dis* 2007, 2: 11.
38. Basso C, Valente M, Poletti A, et al. Surgical pathology of primary cardiac and pericardial tumors. *Eur J Cardiothorac Surg* 1997; 12: 730-8.
39. Burke A, Virmani R. Benign tumors of fibrous tissue. In: Rosai J, Sobin LH, Eds. *Tumors of the Heart and Great Vessels, Atlas of Tumor Pathology*. 3rd series. Washington, DC: Armed Force Institute 1996; vol. 16: pp. 69-77.
40. Rossi L, Maturri L. Cardiac conduction and nervous system in health disease and sudden death. An anatomoclinical overview. *Osp Maggiore* 1995; 89: 239- 257.
41. Ottaviani G, Rossi L, Ramos SG, Maturri L. Pathology of the heart and conduction system in a case of sudden death due to a cardiac fibroma in a 6-month-old child. *Cardiovasc Pathol*. 1999 Mar-Apr;8(2):109-12.
42. Mecchia D, Lavezzi AM, Maturri L. Primary Cardiac Fibroma and Cardiac Conduction System Alterations in a Case of Sudden Death of a 4-month-old Infant. *Open Cardiovasc Med J*. 2013 May 31;7:47-749.
43. Bharati S, Krongrad E, Lev M. Study of the conduction system in a population of patients with sudden infant death syndrome. *Pediatr Cardiol* 1985; 6: 29- 40.

- 
44. Massing GK, James TN. Anatomical configuration of the His bundle branches in the human heart. *Circulation* 1976; 53: 609- 621.
 45. Rossi L. Intramural ramification of the left bundle brunch. *Am heart J* 1978; 96: 271-272.

Protocollo tecnico.

Trattamento dei campioni e metodiche istologiche e istochimiche

Il protocollo diagnostico per l'indagine anatomo-patologica e medico-legale sulla vittime della morte improvvisa del lattante (sudden infant death syndrome – SIDS) e della morte inaspettata fetale (Sudden Intrauterine Unexplained Death Syndrome SIUDS) nell'ultimo trimestre di gravidanza prevede tre tipi di indagine:

1. L'indagine anatomo-patologica.
2. L'indagine genetico-molecolare.
3. L'indagine tossicologica.

Il protocollo tecnico di cui tratteremo in questo lavoro è strettamente riferito all'indagine anatomo-patologica (5, 28).

I casi che arrivano presso il Centro di Ricerca "Lino Rossi" dell'Università di Milano devono sempre essere provvisti di informazioni cartacee come la lettera di accompagnamento, la cartella clinica, la scheda anamnestica reperibile sul sito internet del Centro, a corredo dei campioni anatomici oggetto delle nostre indagini.

I campioni anatomici comprendono: l'encefalo in toto, il midollo spinale nel tratto cervico-toracico, il blocco toracico costituito da entrambi i polmoni, laringe, trachea, esofago, timo, il cuore in toto, anche chiuso nel sacco pericardio, eventuale porzione di diaframma.

In accordo con il "Titolo X del D. Lgs 81/08, Norme comportamentali nei Laboratori Biologici", questo materiale anatomico deve pervenire immerso in una soluzione fissativa costituita da formaldeide al 4%, tamponata, in contenitori plastici idonei, in modo da evitare rischi per gli operatori, quindi ermetici, specifici per il trasporto di organi, contrassegnati dai dati identificativi del paziente e dal materiale inviato, nonché il numero di protocollo dell'Ospedale che ci invia il caso. Durante la prima fase, ossia l'accettazio-

ne, sono presenti due figure professionali: l'anatomo-patologo e il tecnico. Il medico controlla la corrispondenza tra quanto dichiarato nella lettera di accompagnamento e il materiale pervenuto, facendone una descrizione macroscopica degli organi inviati, mentre il tecnico trascrive quanto dettato e provvede a sostituire la formalina sfruttata con formaldeide 4%, in soluzione tampone fosfato, con formalina nuova. A fissazione avvenuta, si procede al campionamento del materiale inviato ad opera dell'anatomo-patologo, coadiuvato dal tecnico. In questa fase, si eseguono dei campioni standard di autopsia, che verranno poi processati e trattati con le normali tecniche istologiche di routine (33,34), e dei campioni per lo studio specialistico, quello oggetto di studio, sia per diagnosi che per ricerca (16,17,22, 24,25,29,35,37, 39).

Tra questi, in particolar modo:

1. I campioni del tronco cerebrale.
2. Il midollo spinale.
3. Il sistema nervoso cardiaco: plessi gangliari e mediastinici (che non verranno trattati in questa sede).
4. Il sistema di conduzione cardiaco (SdC) nei due blocchi del nodo seno atriale (NSA) e del nodo atrio ventricolare (NAV) (1, 2,3,4,19,38).

In caso di morte fetale endouterina possono pervenire al Centro anche gli annessi fetali, sia sotto forma di preparati istologici già pronti, sia come campioni anatomici.

Nel secondo caso, per gli annessi fetali, si effettuano i seguenti prelievi:

- Un rotolo di membrane amnio-coriali libere (se sospette di infezione due rotoli).
- Tre segmenti del cordone ombelicale.
- L'area sottostante l'inserzione del funicolo ombelicale.

Graziella Alfonsi

Centro di Ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

- Le principali diramazioni dei vasi amnio-coriali.
- Un cotiledone microscopicamente normale proveniente dal terzo centrale del disco placentare.
- Tutte le aree ritenute dall'anatomo-patologo meritevoli di indagine istologica.
- Tutte le alterazioni di calibro e forma dei vasi amnio-coriali e dei vasi del funicolo (32).

Nell'allestimento di un preparato istologico esistono dei passaggi fondamentali che vanno eseguiti in sequenza per ottenere un risultato ottimale (7,8). Tali passaggi sono:

1. Fissazione: conservazione del materiale anatomico. Nel caso di organi provenienti dalla Sala Anatomica, si procede con una fissazione di tipo chimico, impiegando comunemente il fissativo in assoluto più usato, cioè la formaldeide 4%, tamponata con tampone fosfato, prodotta commercialmente a causa delle caratteristiche di pericolo alla massima concentrazione (H 311, H 331, H 351, H 371, H 314, H 317).
2. Campionamento dell'anatomo-patologo: ossia riduzione degli organi in frammenti, di spessore prefissato, secondo un protocollo codificato.
3. Post-fissazione: sostituzione della formalina usata con formalina nuova. Questa operazione viene sempre effettuata dopo il campionamento.
4. Processazione: il campione anatomico subisce una serie di passaggi graduali, volti a sostituire l'acqua contenuta nel pezzo con un mezzo indurente, che dà sostegno e consistenza al campione stesso. Esistono, nella tecnica istologica, diversi metodi applicabili a questo scopo.
5. Inclusione: confezione del campione in una forma geometrica, con eventuale supporto, in modo che possa essere montata saldamente sul carrello porta-campione del microtomo.
6. Taglio al microtomo: il campione così ottenuto viene tagliato in sezioni sottili dell'ordine di millesimi di millimetro (mi-

cron). Il modello di microtomo più idoneo per questo lavoro deve avere le seguenti caratteristiche: stabile e pesante, a slitta, opportunamente modificato con "alzaceppi", che hanno il compito di aumentare lo spazio luce tra la lama del microtomo e il portacampione fino ad un'altezza di cm. 4, in quanto alcune inclusioni hanno la caratteristica di essere molto più alte rispetto a quelle di routine, il cui standard è di cm 0,3.

7. Le sezioni che si ottengono dal taglio al microtomo vengono adagiate nel bagno stendifettine, che contiene acqua a 37°C, per aiutarne la distensione, e poi raccolte su vetrini portaoggetti, recanti i dati identificativi del caso e del campione. I vetrini così ottenuti vengono posti in stufa a 37°C, per tutta la notte, per favorire l'adesione della sezione al vetrino portaoggetto (si possono anche utilizzare collanti chimici nell'acqua del bagno stendifettine).
8. Colorazione: le sezioni così ottenute, per essere visibili al microscopio, vanno "colorate". Le colorazioni possono essere: istologiche (per vedere la morfologia del nostro campione), istochimiche (per mettere in risalto particolari componenti dei vari tessuti che compongono il campione), immunoistochimiche (quando si deve "marcare" una componente specifica di un tessuto, di una cellula, sia citoplasmatico che nucleare).

La particolarità del lavoro tecnico, sia per lo studio del sistema nervoso centrale autonomo che dello studio del SdC, risiede nel fatto che le strutture oggetto di interesse non sono identificabili ad occhio nudo e hanno uno sviluppo tridimensionale, quindi, per reperirle e studiarle, è necessario tagliare al microtomo quasi o del tutto le inclusioni specifiche della ricerca. Questa tecnica viene detta "seriatura" e viene effettuata, per l'appunto, col microtomo (11,12,13,14).

Come si può vedere dalla **fig. 1** abbiamo due sistemi di seriatura:

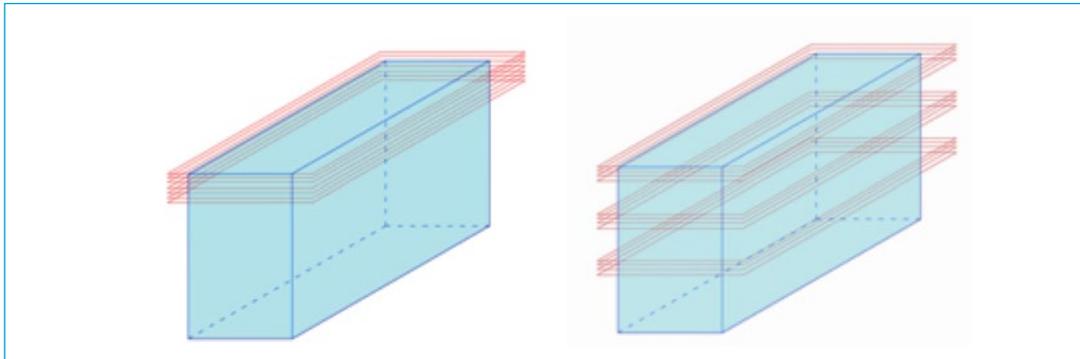


Figura 1
Sistemi di seriatura di una inclusione.

1. una continua: ossia, col microtomo si tagliano sezioni sottilissime, dell'ordine di micron, una dopo l'altra, senza intervalli prefissati;
 2. una con intervalli prefissati: cioè scartando materiale tra un livello e il successivo.
- Sul vetrino portaoggetti viene trascritto, oltre il numero del caso e del campione, anche il numero del livello e la sequenza della sezione nel livello.

Tecniche per lo studio del sistema nervoso autonomo

Durante il campionamento l'anatomo-patologo preleva per lo studio del sistema nervoso autonomo, centrale e periferico, i seguenti campioni (fig.2):

1. Terzo inferiore mesencefalo-terzo superiore ponte.
2. Ponte intermedio: questo campione non viene seriato, se non all'occorrenza.
3. Terzo inferiore ponte-terzo superiore midollo allungato.
4. Obex.

5. Midollo spinale: prelevato tra T_1 e T_5 .
Tutti i campioni del tronco cerebrale e del midollo spinale subiscono una processazione manuale (figg. 3 e 4). Come illustrato nella fig. 3, il primo passaggio è di lavaggio dei campioni per rimuovere la formalina. Poi abbiamo una scala ascendente, con alcool a concentrazioni crescenti, per sostituire progressivamente l'acqua contenuta nel pezzo con l'alcool. Poi ci sono due passaggi di una

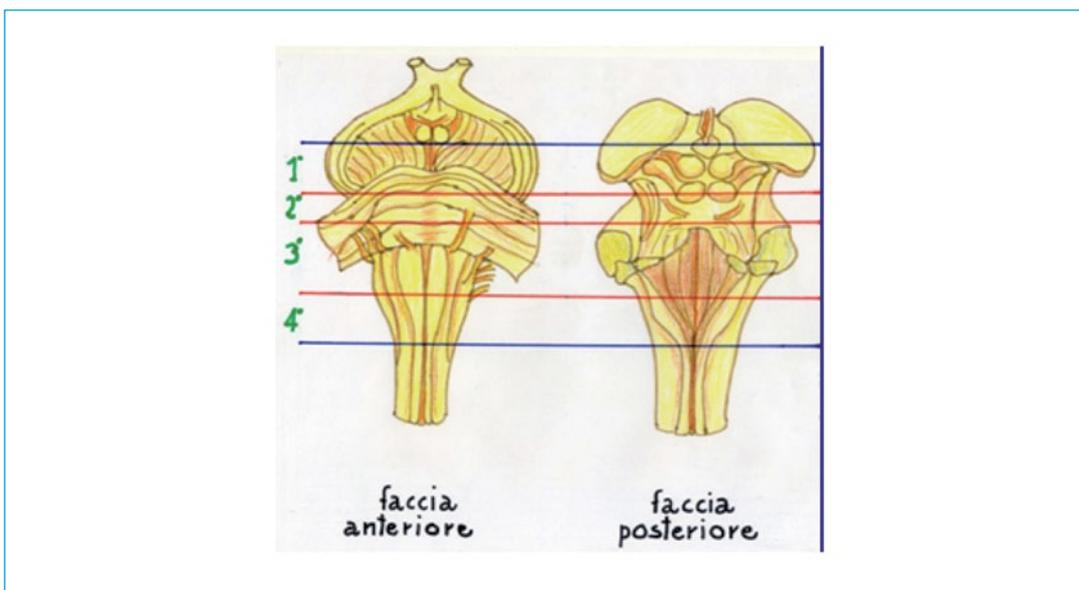


Figura 2
Campionamento del tronco cerebrale

Figura 3

Processazione del sistema nervoso autonomo centrale

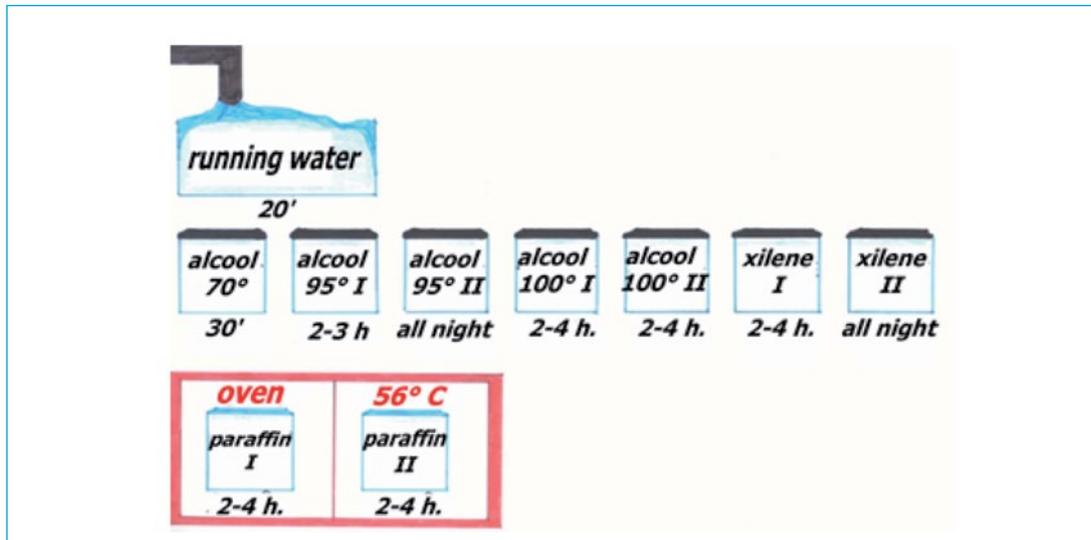
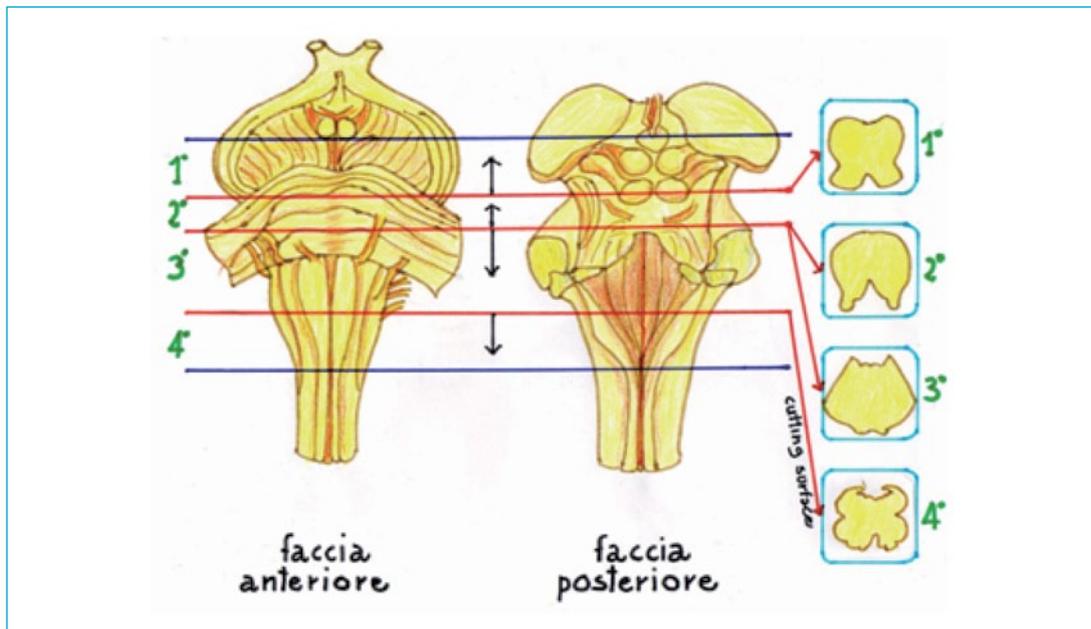


Figura 4

Inclusione del sistema nervoso autonomo centrale



sostanza "ponte", lo xilene, perché l'alcool e la paraffina non sono compatibili. Segue la sostituzione dello xilene con il mezzo imbibente: la paraffina, punto di fusione 56-58°C, passaggio che si effettua in stufa poiché la paraffina, a temperatura ambiente, è solida. I tempi sono di durata variabile in considerazione delle dimensioni dei campioni, che sono diverse a seconda che si tratti di un feto o di un nato.

I campioni 1 e 2 verranno inclusi dalla faccia caudale e quindi la seriazione del campione

1. andrà da caudale a craniale. I campioni 3 e 4 verranno inclusi dalla faccia craniale e la loro seriazione verrà effettuata da craniale a caudale. Lo scopo di questa procedura è quello di ridurre il numero di livelli da seriare per trovare i nuclei di interesse.

Per una prima osservazione al microscopio, le inclusioni 1,3,4 vengono tagliate in serie: si fanno, in via iniziale, 15 livelli, senza intervallo tra loro, ad eccezione dello spazio per fare il piano dell'inclusione con il microtomo. Ciascun livello è composto da 12

PARAFFIN SECTION CUTTING

the section thickness is set to 6-7 microns

For every block:

- The block is cut serially: fifteen levels, without intervals, for the first examination.
- 12 sections for every level: 1 section is stained with hematoxylin-eosin, 1 section with Kluver-Barrera, 2 sections for other histochemical stainings and 8 on xilanzed slides for immunohistochemistry reactions.
- After the first examination, it is possible to cut the block again to find structures of interest.

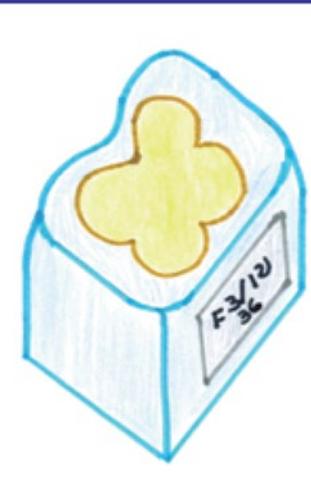


Figura 5

Seriatura di una inclusione del sistema autonomo centrale

sezioni, dello spessore di 6 micron, di cui 4 per colorazioni istochimiche e 8 per reazioni immunoistochimiche (fig.5) (31,42). Come lavoro preliminare, per ogni livello si colora un unico vetrino in Ematossilina-Eosina, poi sarà l'anatomo-patologo a determinare i livelli interessanti, su cui applicare le colorazioni istochimiche peculiari e/o le immunoistochimiche. Se i 15 livelli di base non fossero sufficienti, il campione può essere seriato anche totalmente. Questo protocollo di seriatura potrebbe essere applicato anche per l'inclusione 2, qualora si rendesse necessario. Per quanto riguarda il midollo spinale, viene campionato in tranches, che vengono orientate già al campionamento, in direzione cranio-caudale, e poi incluse e orientate sul vetrino portaoggetti nello stesso senso, per ridurre al minimo il numero dei vetrini tagliati (fig.6).

Vengono allestite anche qui 12 sezioni per ogni livello, ma i livelli complessivi sono solo 3, con un intervallo di 200-300 micron tra un livello e l'altro. Le colorazioni istologiche e istochimiche eseguite sono preparate utilizzando soluzioni coloranti prodotte in labo-

ratorio e in maniera artigianale. Quelle che applichiamo sono l'Ematossilina-Eosina, che è la colorazione morfologica per eccellenza, maggiormente impiegata (fig.7).

Sui livelli più significativi impieghiamo la Klüver-Barrera, che evidenzia le guaine mieliniche in blu con il colorante Luxol Fast Blue, mentre il Cresyl Violetto impartisce ai nuclei una colorazione viola pallido, la sostanza cromidiale appare in viola porpora (fig. 8) (9). Questa colorazione viene utilizzata anche per le determinazioni morfometriche (15,16,18, 26,27,30,36).

Tra le impregnazioni argentiche utilizziamo sia il metodo di Bielschowsky classico, (10) o una sua modifica, il metodo di Gless-Marsland (fig. 9) per i neuroni e le neurofibrille (10). Con quest'ultimo metodo, le neurofibrille si vedono in nero sia nel pirenoforo che nell'assone, nuclei da nero a marrone, colorazione di fondo in bronzo dorato. Si mettono in evidenza anche le fibre amieliniche e le terminazioni nervose.

Con le sezioni in bianco possiamo anche fare ulteriori colorazioni istochimiche, in relazione alle richieste del medico, come:

Figura 6

Protocollo di inclusione, taglio al microtomo del midollo spinale

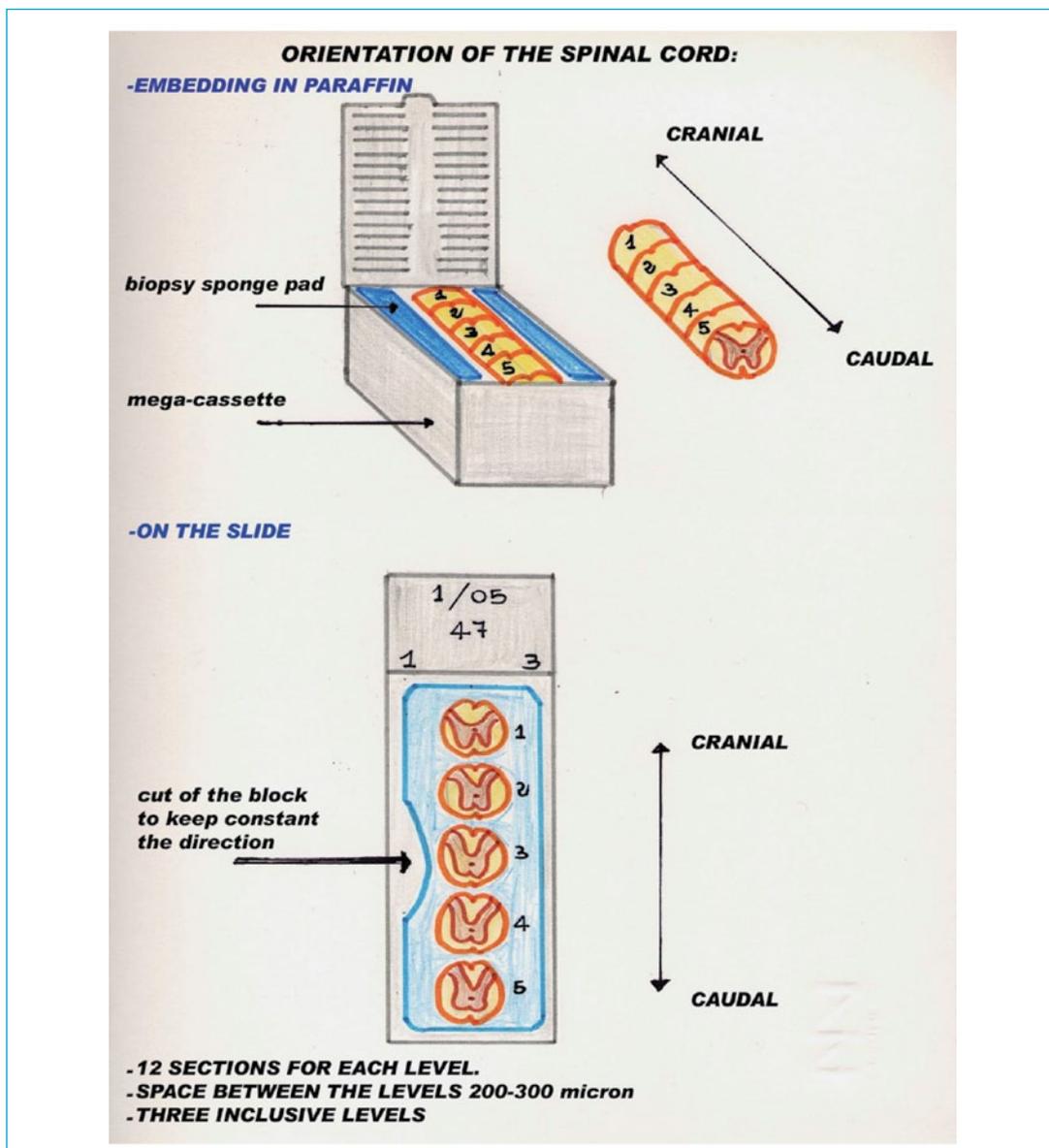
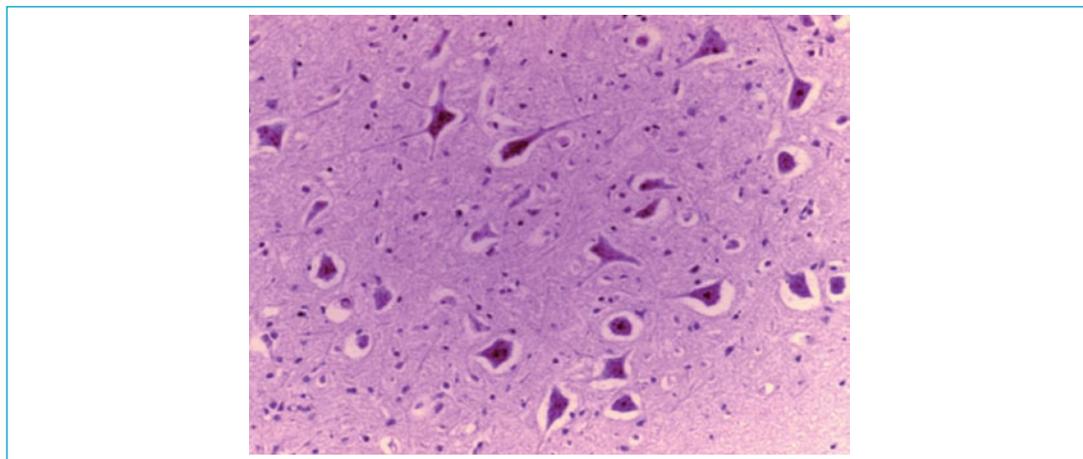


Figura 7

Ematossilina Eosina (25 x)



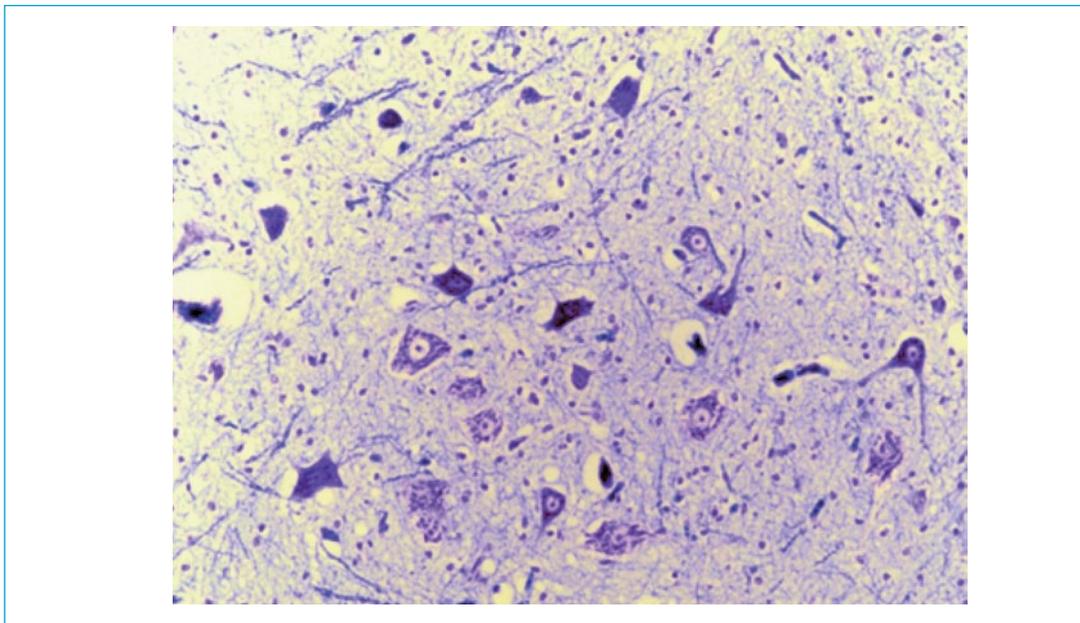


Figura 8
Colorazione Kluver-Barrera (25 x)

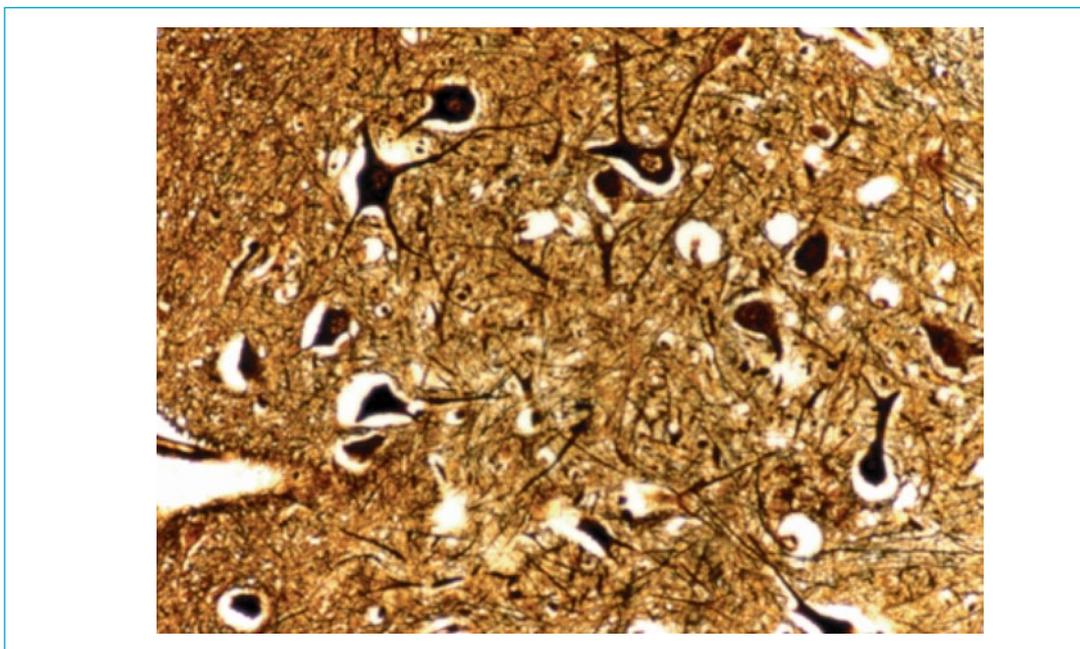


Figura 9
Colorazione Gless-Marsland (25 x)

- Il metodo al Cresyl Violetto di Nissl (10).
- Il metodo PTAH (Ematossilina Fosfotungstica di Mallory) modificato per la neuroglia (9).
- Il metodo di Lillie (7, 41).
- Il metodo di Perls per il ferro (7, 40).

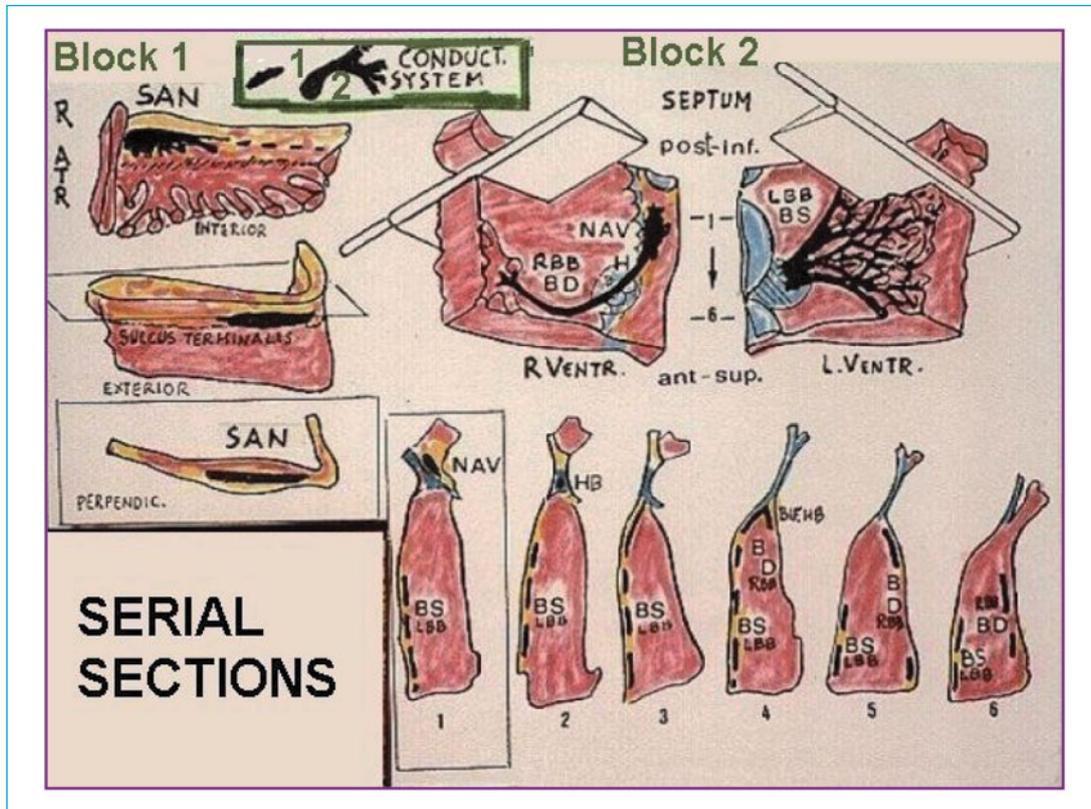
Tecniche per lo studio del sistema di conduzione cardiaco

La metodica di campionamento del SdC è stata messa a punto personalmente dal

Professor Lino Rossi negli anni 1955 (NAV) e 1958 (NSA), così come pure la procedura tecnica che ne consegue. Vengono campionati due grossi blocchi dal cuore, il NSA e il NAV (1,4,6). Il Professor Rossi sintetizzava così la procedura di campionamento e seriazione, come evidenziato dalla **fig. 10**. I due blocchi ottenuti vengono processati, utilizzando una scala di processazione manuale che usa un reagente, 1-4, diossano (dietilendiossi-

Figura 10

Campionamento e seriatura del sistema di conduzione cardiaco, secondo Rossi

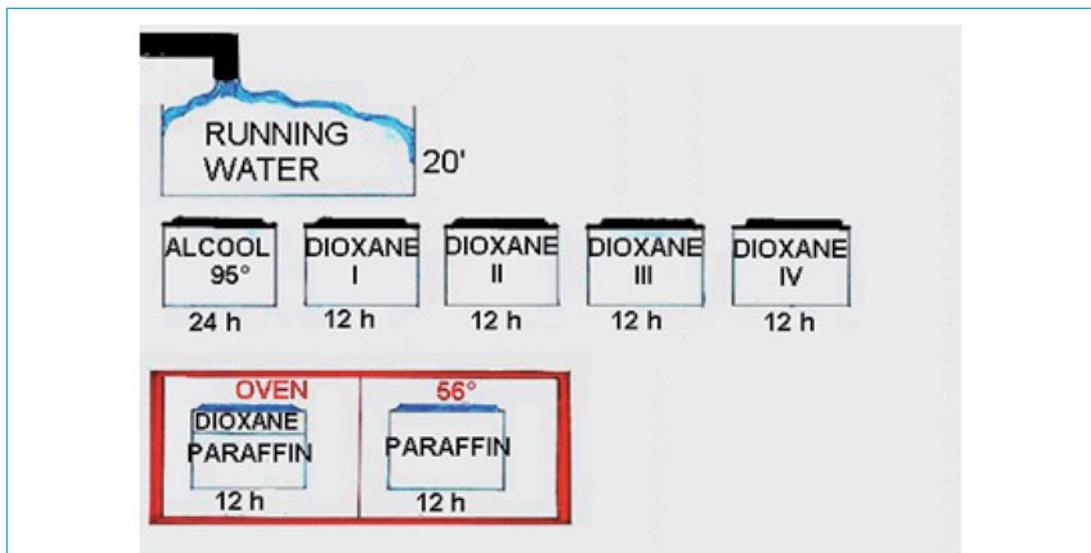


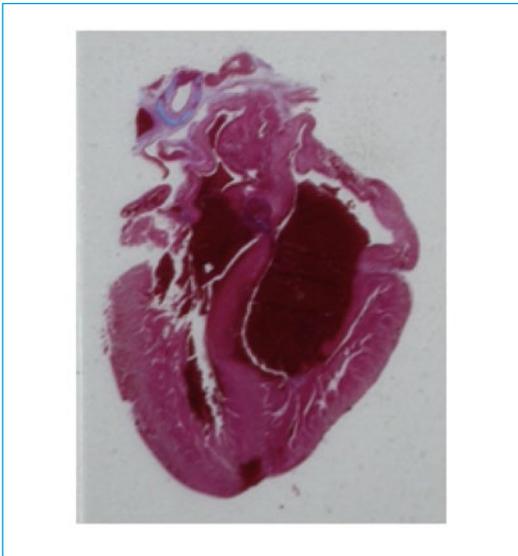
do), con funzioni sia di disidratante che di chiarificante ed è miscibile con la paraffina. (10,11,12). La sua azione è ideale per il tessuto miocardico, perché disidrata senza indurire un tessuto che è già di per sé consistente.

Come illustrato nella **fig. 11**, abbiamo un lavaggio in acqua corrente per la rimozione della formalina, inizio di disidratazione con alcool 95% per 24 ore e poi quattro passaggi consecutivi di dioxano di 12 ore cadauno. Segue una imbibizione in dioxano-paraffina,

Figura 11

Processazione del tessuto di conduzione cardiaco





1 : 2, per 12 ore. Seguono altre 12 ore in paraffina pura. Questi due ultimi passaggi avvengono in stufa, a 56-58°C. Dopo la processazione avviene l'inclusione dei due blocchi.

È stato messa a punto anche una processazione analoga, anche se con tempi più lunghi, per il cuore di feto in toto, in quei casi in cui il feto ha poche settimane di gestazione (fig.12). Per l'inclusione dei due blocchi del sistema di conduzione è molto importante che il tecnico sia in grado di riconoscere le strutture di repere. Per il NSA il punto di repere sono i muscoli pettinati

che vanno all'opposto della superficie di taglio al microtomo. Per il NAV si mettono le valvole aortiche all'opposto della superficie di taglio: cioè il campione viene tagliato da posteriore ad anteriore. In questo modo, la branca sinistra del cuore è posta a sinistra sul vetrino e la branca destra a destra (fig.13). I campioni sono fuori misura standard per l'altezza: vengono quindi inclusi utilizzando delle staffe (forme di Leuckart), composte da una base e due lati, regolabili in relazione al campione da includere. L'altezza dell'inclusione è comunque sempre cm 4, ossia lo spazio luce del microtomo. Infatti qualunque siano le dimensioni dei nostri campioni del SdC si fa sempre un'inclusione alta, di cm 4, per permettere all'inclusione di essere tenuta salda tra le ganasce del portacampioni del microtomo, senza l'uso di supporti plastici o lignei (fig. 14).

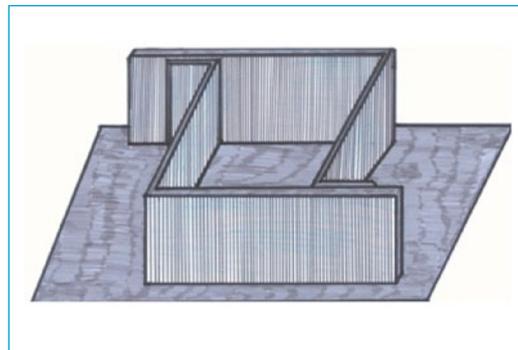


Figura 12

Preparato istologico del cuore di feto in toto

Figura 14

Staffe di Leuckart

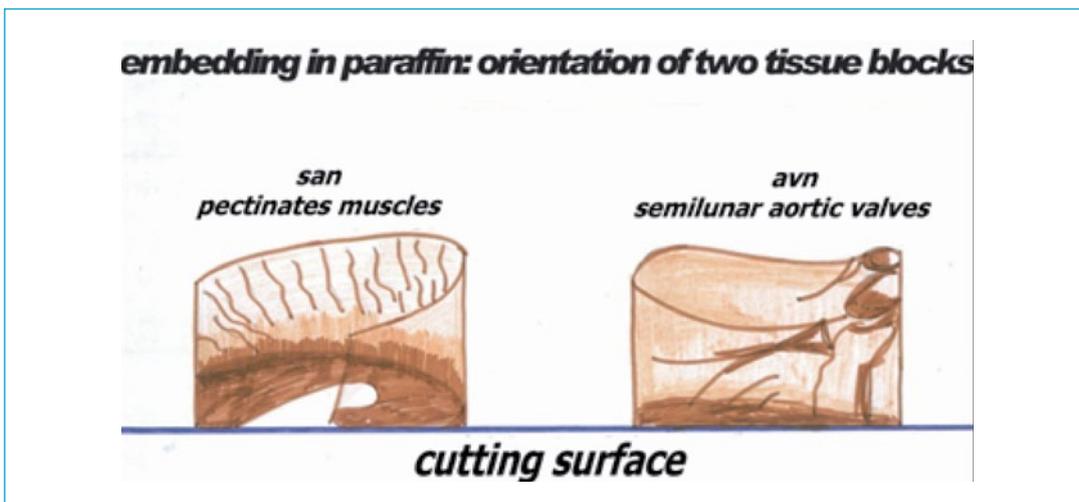


Figura 13

Inclusione del nodo seno-atriale e nucleo atrio-ventricolare

Figura 15

Sgrossamento dell'inclusione

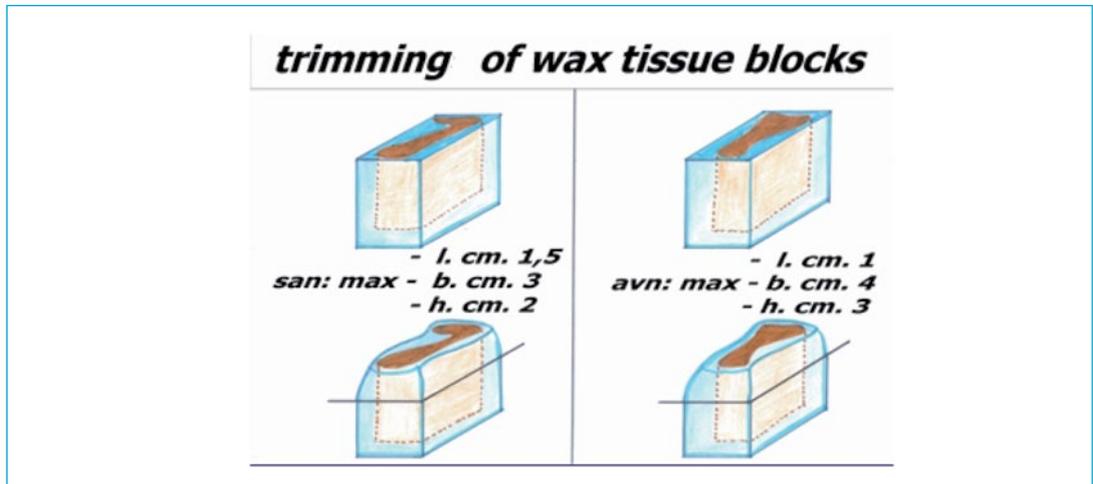


Figura 16

Taglio delle sezioni al microtomo

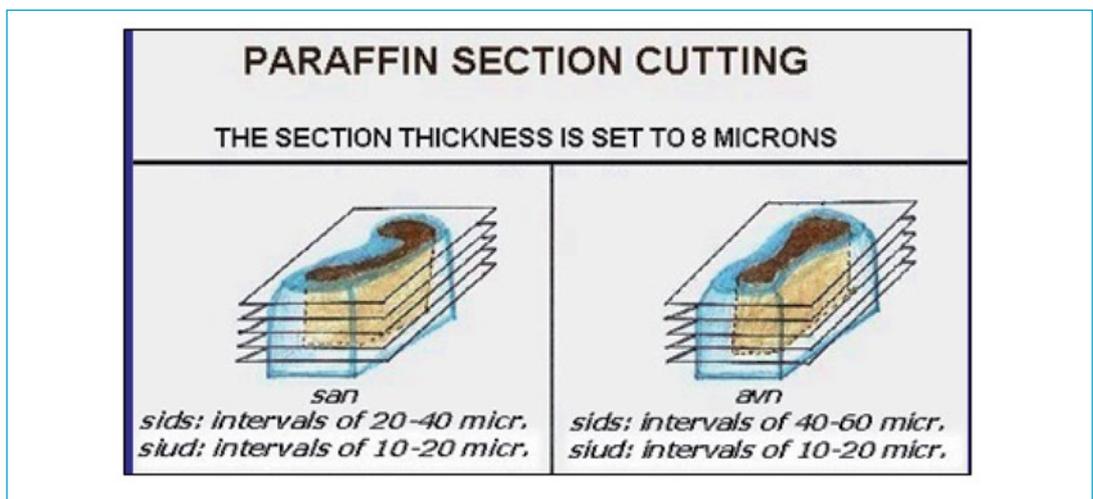
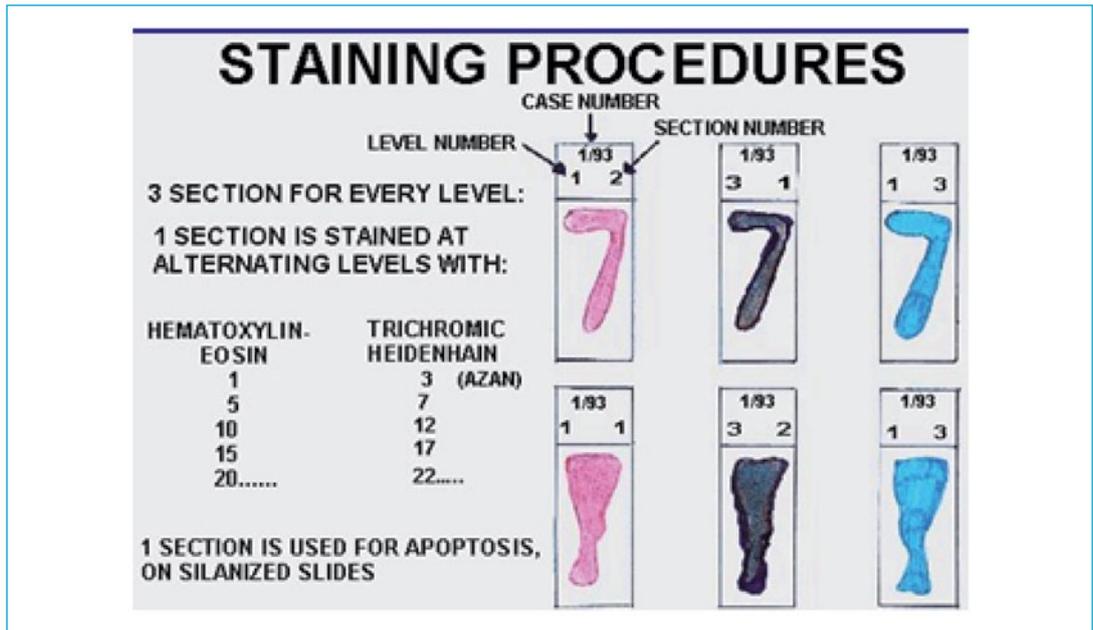


Figura 17

Colorazione del sistema di conduzione cardiaco



Sempre per consentire all'inclusione di essere inserita saldamente nel microtomo, la parte inferiore rimane invariata, mentre la parte superiore viene modellata, assumendo la forma del campione, per consentire alla sezione di stendersi meglio nel bagno stendi fettine (fig.15).

Anche questi due blocchi vengono seriatati, ma ad intervalli, perché il SdC si snoda per un lungo tratto dell'altezza del campione. Gli intervalli variano a seconda che si tratti di SIDS o SIUDS, e sono in relazione alle dimensioni del pezzo. Lo spessore delle sezioni è di 8 micron (fig. 16).

Per ogni livello si tagliano 3 sezioni: due normali e una xilanzata per immunohistochimica. Però la colorazione iniziale comprende alternanza di Ematossilina-Eosina e AZAN, a livelli prefissati (fig.17).

Si colorano in Ematossilina-Eosina i livelli: 1°, 5°,10°, 15°, 20°, 25°, a seguire fino alla conclusione del pezzo. Si colorano in AZAN i livelli: 3°, 7°,12°, 17°, 22°, 27°, a seguire fino alla conclusione del pezzo. Qualora, dopo una prima osservazione, l'anatomo-patologo ravvisi un sospetto di alterazione del sistema di conduzione, verranno richiesti i vetrini intermedi in AZAN per una eventuale conferma. L'AZAN (AZocarminio-ANilblau) è la colorazione istochimica più importante per lo studio del SdC. Il metodo che viene impiegato è una modifica del Professor Rossi al metodo AZAN, secondo Heidenhain (8). La caratteristica è quella di colorare il miocardio normale in rosso, il tessuto connettivo in varie gradazioni di blu, mentre il tessuto di conduzione appare rosso più pallido e quindi facilmente individuabile (figg. 18, 19).

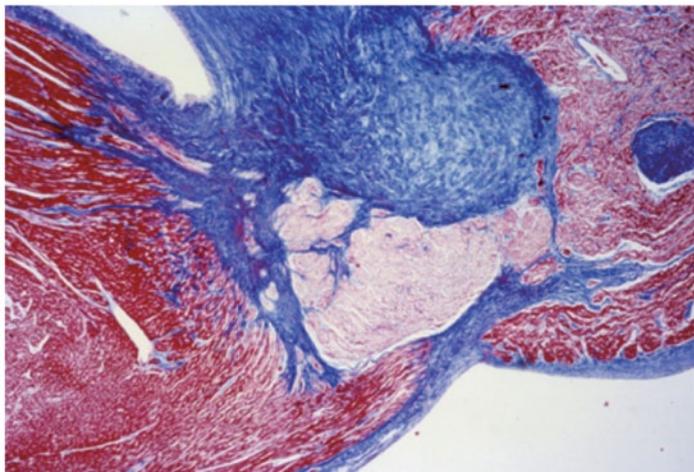


Figura 18

Nucleo atrio-ventricolare colorato con metodica secondo AZAN (10 x)

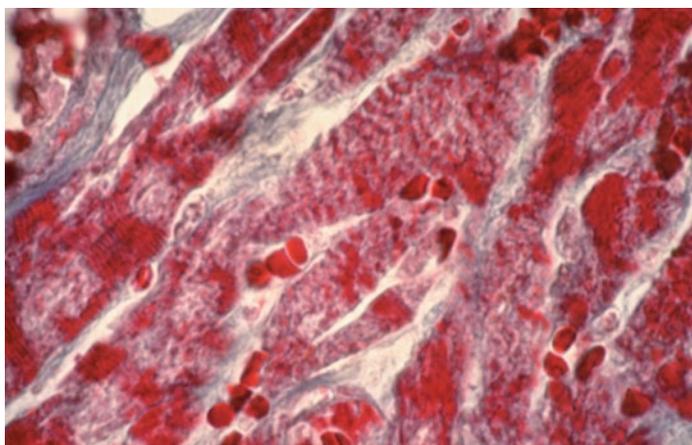


Figura 19

Miocardio con bande di contrazione con colorazione secondo AZAN (40 x)

Figura 20

Miocardio con colorazione con PTAH (10 x)

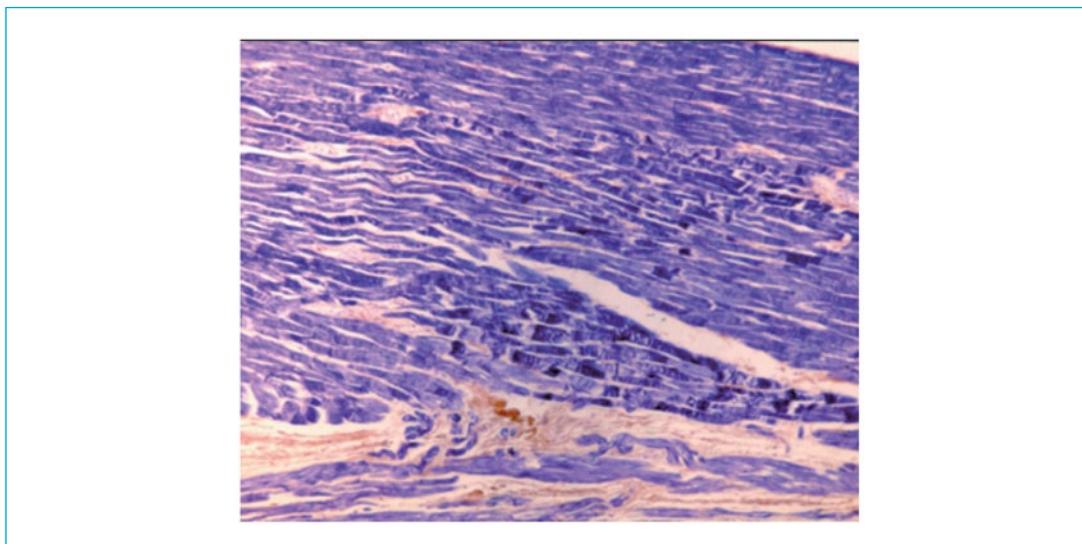
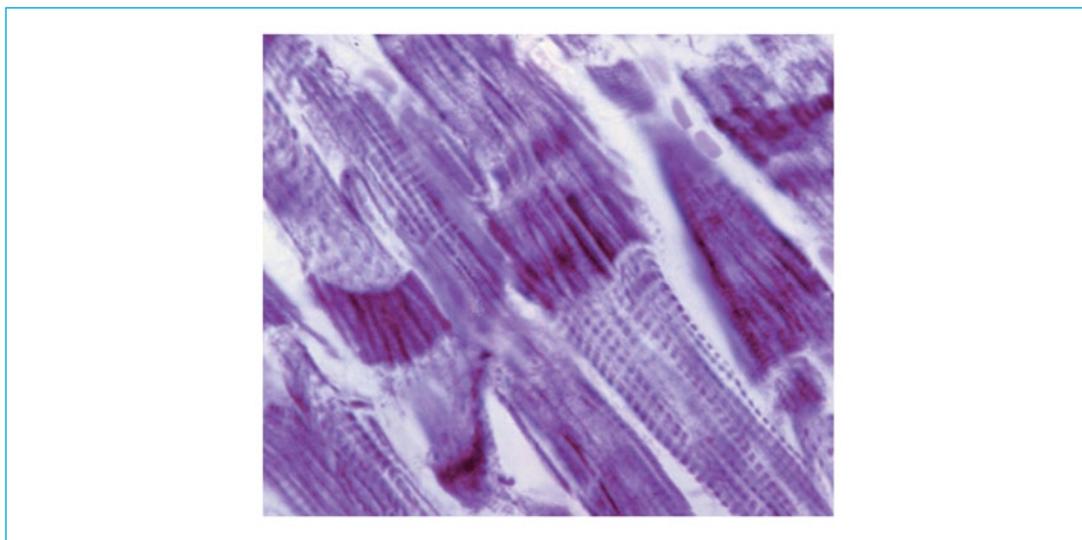


Figura 21

Particolare di fibra miocardica con colorazione secondo PTAH (40 x)



Altra colorazione istochimica, che ha la stessa valenza dell'AZAN, è il PTAH (Ematossilina fosfotungstica di Mallory), in cui il miocardio risulta blu, mentre il tessuto connettivo in sfumature di arancio (**figg. 20, 21**). (8)
Qualora ci fosse una metaplasia cartilaginea del centro tendineo del cuore, nel NAV,

si possono applicare Alcian a pH = 2,5 e PAS (Periodic Acid -Schiff) (8). Per i vasi si usano la colorazione di Weigert per le fibre elastiche, il metodo di Hart, che impiega la resorcina -fucsina, e la colorazione secondo AZAN (7,9,20,21,23).

BIBLIOGRAFIA

Libri:

1. Rossi L, Maturri L, Lotto A. Cardiac Conduction Blocks and Pacemaking. Ed. Class International, 1988.
2. Rossi L, Maturri L. Clinicopathological approach to cardiac arrhythmias. Centro Scientifico Torinese, Torino, Italy, Futura Pub.Co Mount Kisco, N.Y., 1990
3. Rossi L, Maturri L. Cardiac conduction and nervous system in health, disease and sudden death: an anatomoclinical overview. Ospedale Maggiore 1995; 89: 239-257.
4. Rossi L, Maturri L. Anatomohistological features of the heart's conduction system and innervation in SIDS . In: TO Rognum (ed.); Sudden Infant Death Syndrome. New Trends in Nineties Scandinavian University Press 1995: pp. 207-212.
5. Maturri L. Protocollo diagnostico "Indagine anatomo-patologica e medico legale sulle vittime della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) e della morte inaspettata del feto". Regione Lombardia-Sanità - AB Comunicazioni ed., 2007.
6. Maturri L, Lavezzi AM. Anatomia patologica della morte inaspettata fetale versus SIDS. In: "SIDS- Conoscerla per ridurne il rischio"- Editeam ed., Cento (Fe) 2008; Cap.6, pp. 75-91.
7. Mazzi V. Manuale di Tecniche Istologiche e Istochimiche. Piccin Editore - Padova 1977
8. Bancroft J D, Stevens A. Theory and practice of histological techniques. Churcill Livingstone, 1982.
9. Lee G. Luna, HJ Manual of histologic staining methods. Armed Forces Institute of Pathology, 3° ed. (ASCP)
10. Melis M, Carpino F, Di Tondo U. Tecniche in Anatomia Patologica. Edi-Ermes, 1989.

Pubblicazioni su rivista

11. Crippa M, Alfonsi G. Tecniche di studio del sistema di conduzione cardiaco. Bio-informazioni anno III° 1991; 3: 55-58.
12. Alfonsi G, Crippa M. Tecniche istologiche e istochimiche di seriazione e colorazione del sistema di conduzione e nervoso cardiaco. Pathologica 1994; 86: 444-449.
13. Crippa M, Alfonsi G. Tecniche istologiche ed istochimiche applicate al sistema di conduzione cardiaco. Atti del Simposio Internazionale sulla SIDS, Milano, ottobre 1999, 129-141.
14. Alfonsi G, Crippa M. Tecniche istologiche ed istochimiche applicate al sistema nervoso autonomo cardio-respiratorio e delle prime vie digestive". Atti del Simposio Internazionale sulla SIDS, Milano, ottobre 1999, 143-153.
15. Maturri L, Biondo B, Mercurio P, Rossi L. Severe hypoplasia of medullary arcuate nucleus: quantitative analysis in Sudden Infant Death Syndrome. Acta Neuropathol (Berl) 2000; 99: 371-375.
16. Maturri L, Biondo B, Suárez-Mier MP, Rossi L. Brain stem lesions in the sudden infant death syndrome: variability in the hypoplasia of the arcuate nucleus. Acta Neuropathol 2002; 194: 12-20.
17. Maturri L, Lavezzi A.M., Ottaviani G., Alfonsi G., Crippa M., Rossi L. Anatomopathological techniques for the study of brainstem in sudden infant death syndrome (SIDS) and unexpected late fetal stillbirth. Conference Handbook 7th SIDS international Conference. August 31- September 4, 2002, Florence, Italy.

18. Maturri L, Minoli I, Lavezzi AM, Cappellini A, Ramos S, Rossi L. Hypoplasia of medullary arcuate nucleus in unexpected late fetal death (stillborn infants): a pathologic study. *Pediatrics* 2002; 109: E43.
19. Ottaviani G, Maturri L, Rossi L, James TN. Crib death: further support for the concept of fatal cardiac electrical instability as the final common pathway. *Int J Cardiol* 2003; 92: 17-26.
20. Maturri L, Lavezzi AM, Ottaviani G, Rossi L. Intimal pre-atherosclerotic thickening of the coronary arteries in human fetuses of smoker mothers. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2234-2238.
21. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM, Rossi L. Early atherosclerotic lesions of the cardiac conduction system arteries in infants. *Cardiovasc Pathol* 2004; 13: 276-281.
22. Maturri L, Ottaviani G, Alfonsi G, Crippa M, Rossi L, Lavezzi AM. Study of the brainstem, particularly the arcuate nucleus, in sudden infant death syndrome (SIDS) and sudden intrauterine unexplained death (SIUD). *Am J Forensic Med Pathol* 2004; 25: 44-48.
23. Maturri L, Ottaviani G, Corti G, Lavezzi AM. Pathogenesis of early atherosclerotic lesions in infants. *Pathol Res Pract* 2004; 200: 403-410.
24. Lavezzi AM, Ottaviani G, Ballabio G, Rossi L, Maturri L. Preliminary Study on the cytoarchitecture of the human parabrachial/Kölliker-Fuse complex, with reference to sudden infant death syndrome and sudden intrauterine unexplained death. *Pediatr Dev Pathol* 2004; 7: 171-179.
25. Lavezzi AM, Ottaviani G, Rossi L, Maturri L. Cytoarchitectural organization of the parabrachial/Kölliker-Fuse complex in man. *Brain Dev* 2004; 26: 316-320.
26. Lavezzi AM, Ottaviani G, Rossi L, Maturri L. Hypoplasia of the Parabrachial/Kölliker-Fuse complex in perinatal death. *Biol Neonate* 2004; 86: 92-97.
27. Lavezzi AM, Ottaviani G, Mauri M, Maturri L. Hypoplasia of the arcuate nucleus and maternal smoking during pregnancy in sudden unexplained perinatal and infant death. *Neuropathology* 2004; 24: 284-289.
28. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM. Techniques and criteria in pathologic and forensic-medical diagnostics of sudden unexpected infant and perinatal death. *Am J Clin Pathol* 2005; 124:259-268.
29. Lavezzi AM, Ottaviani G, Mingrone R, Maturri L. Analysis of the human locus coeruleus in perinatal and infant sudden unexplained death. Possible role of the cigarette smoking in the development of this nucleus. *Dev Brain Res* 2005; 154: 71-80.
30. Ottaviani G, Maturri L, Mingrone R, Lavezzi AM. Hypoplasia and neuronal immaturity of the hypoglossal nucleus in sudden infant death. *J Clin Pathol* 2006; 59: 497-500.
31. Alfonsi G, Terni L, Tosi D. Inclusion, cut, staining and immuno-histochemical techniques of the drawn samples. *Acta Bio Medica* 2006; 77: 52-53.
32. Fulcheri E, Grillo F, Musizzano Y. Il trattamento della placenta per l'esame istopatologico finalizzato allo studio e alla diagnostica del danno neurologico feto-neonatale. *Riv It Ost Gin* 2006; 9: 475-481.
33. Lavezzi AM, Ottaviani G, Mauri M, Maturri L. Alterations of biological features of the cerebellum in sudden perinatal and infant death. *Curr Mol Med* 2006; 6: 429-435.
34. Lavezzi AM, Ottaviani G, Terni L, Maturri L. Histological and biological developmental characterization of the human cerebellar cortex. *Int J Dev Neurosci* 2006; 24: 365-371.
35. Maturri L, Lavezzi AM. Pathology of the central autonomic nervous system in stillbirth. *Open Ped Med J* 2007; 1: 1-8.

- 
36. Lavezzi AM, Maturri L. Hypoplasia of the parafacial/facial complex: a very frequent finding in sudden unexplained fetal death. *Open Neurosci J* 2008; 2: 1-5.
 37. Lavezzi A.M., Maturri L. Functional neuroanatomy of the human pre-Bötzinger complex with particular reference to sudden unexplained perinatal and infant death. *Neuropathology* 2008; 28: 10-16.
 38. Ottaviani G., Maturri L. Histopathology of the cardiac conduction system in sudden intrauterine unexplained death. *Cardiovasc Pathol* 2008; 17: 146-155.
 39. Maturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM. Guidelines for neuropathologic diagnostics of perinatal unexpected loss and sudden infant death syndrome (SIDS) - A technical protocol. *Virchows Arch* 2008; 452: 19-25.
 40. Lavezzi AM, Mohorovic L, Alfonsi G, Corna MF, Maturri L. Brain iron accumulation in unexplained fetal and infant death victims with smoker mothers - the possible involvement of maternal methemoglobinemia. *BMC Pediatr* 2011; 11: 62-68.
 41. Lavezzi AM, Alfonsi G, Maturri L. Pathophysiology of the human locus coeruleus complex in fetal-neonatal sudden unexplained death. *Neurol Res* 2013; 35:44-53.
 42. Lavezzi AM, Corna MF, Maturri L. Neuronal nuclear antigen (NeuN): a useful marker of neuronal immaturity in sudden unexplained perinatal death. *J Neurol Sci*, 2013; 329:45-50.

Genetica molecolare.

Metodi di conservazione e di estrazione del DNA e dell'RNA

La morte improvvisa del lattante (sudden infant death syndrome – SIDS) e la morte inaspettata fetale (Sudden Intrauterine Unexplained Death Syndrome SIUDS) (1,2), rappresentano aspetti di un problema multi fattoriale che non ha ancora trovato un approccio universalmente riconosciuto a livello anatomo-clinico. Nonostante gli sforzi di molti ricercatori, le vere cause di SIUDS e SIDS rimangono sconosciute. Questo dipende principalmente dalla mancanza di appropriati e dettagliati studi post-mortem, studi genetici ancora incompleti e cofattori ambientali non ancora determinati.

La neuropatologia è una componente integrale e un substrato consistente nei casi di SIUDS e SIDS.

Infatti anche piccole anomalie della struttura del tronco cerebrale che controllano funzioni vitali possono essere osservate sia in casi di SIUDS che di SIDS (3-7).

Recenti evidenze in studi di genetica molecolare hanno aperto nuove prospettive nella definizione dei meccanismi patogenetici delle morti inaspettate perinatali ed infantili (8,9). Numerosi studi hanno identificato polimorfismi nel trasportatore della serotonina (serotonin transport protein 5-HTT), il regolatore della concentrazione della serotonina a livello delle sinapsi, come fattore predisponente alla SIDS (10, 11). In particolare, l'allele lungo (L) della regione del promotore di questo gene sembra essere significativamente associato ai casi di SIDS. Anche alterazioni nell'espressione delle subunità $\alpha 4$ e $\alpha 7$ dei recettori acetilcolinici per la nicotina (nAChRs) potrebbero essere coinvolte in questa patologia nonostante lo studio di geni relativi al metabolismo della nicotina non ha evidenziato associazioni con la SIDS. Sono stati studiati geni responsabili delle prime

fasi dell'embriogenesi del sistema nervoso autonomo: il gene RET è stato identificato più frequentemente nei casi di SIDS. Polimorfismi nel terzo esone del gene PHOX2B sono stati identificati più frequentemente in casi di SIDS rispetto ai casi controllo, nonostante nessuno presentasse mutazioni nella sindrome da ipoventilazione congenita centrale (Congenital Central Hypoventilation Syndrome - CCHS) (9-11). Alcuni autori hanno ipotizzato che le aritmie ventricolari e la sindrome del QT lungo (Long Q-T Syndrome - LQTS) potrebbero essere responsabili in alcuni casi di SIDS. LQTS è una malattia genetica causata da mutazioni in numerosi geni e caratterizzata da un prolungamento dell'intervallo QT dell'ECG e dalla tendenza ad aritmie letali durante l'attivazione del simpatico.

È stata condotta un'analisi genetica post-mortem in diversi casi di SIDS ed è stata riportata un'incidenza variabile di mutazioni patogeniche (dall'1.5 al 9.5%) nei geni dei canali al potassio (KCNQ1- LQT1, KCNH2- LQT2, KCNE1, KCNE2) e al sodio (SCN5A- LQT3), nella caveolina-3 (CAV3- LQT9) e nel recettore cardiaco della rianodina (RyR2) (12-14).

La Biologia Molecolare studiando gli acidi nucleici (DNA e RNA) risulta quindi essere il giusto completamento delle indagini anatomo-patologiche. La sua applicazione nell'eziopatogenesi della SIUDS e della SIDS è oggi indispensabile per approfondire adeguatamente le problematiche inerenti a queste sindromi.

Il fine delle analisi di genetica molecolare è poter correlare eventuali alterazioni di struttura, evidenziate tramite le classiche tecniche di indagine anatomo-patologiche, con la funzione di un particolare gene.

Valentina Casale
Roberta Oneda

Laboratorio di Genetica Molecolare, Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

La correttezza del risultato analitico dipende però dal mantenimento delle caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche del campione in esame.

È universalmente riconosciuto che i migliori risultati di estrazione di DNA e soprattutto RNA si hanno da campioni di tessuti freschi o congelati a -80°C . L'ostacolo principale per le indagini genetiche nella SIUDS e nella SIDS è rappresentato dalle complesse "caratteristiche" dei campioni disponibili. Infatti i prelievi autoptici vengono eseguiti almeno 24 ore post mortem e i tessuti vengono così lasciati in formalina per lunghi periodi di tempo, con conseguente grave danno alla struttura degli acidi nucleici che vanno incontro a frammentazione. Per risolvere questo problema, nel nostro laboratorio è stato introdotto l'utilizzo di un buffer innovativo chiamato RNAlater® (Ambion, Austin, TX), che consente di mantenere l'integrità degli acidi nucleici e che è anche menzionato nelle linee guida predisposte in base alla Legge n.31. I campioni trattati con questo buffer hanno caratteristiche comparabili a quelle dei campioni appena prelevati. Siamo giunti a questa conclusione in seguito a varie prove di estrazione del DNA da tessuti conservati in differenti modi (formalina, congelati a $-20^{\circ}/-80^{\circ}\text{C}$, azoto liquido, soluzione fisiologica, etanolo) (15). Tutti i DNA estratti da tessuti congelati o conservati in RNAlater erano di ottima qualità e resa; al contrario quelli derivanti da campioni conservati in formalina ed

etanolo apparivano, su gel d'agarosio, con la caratteristica striscia continua (smear) indice di degradazione (fig.1)

Un ulteriore vantaggio dell'RNAlater è rappresentato dal semplice e pratico stoccaggio dei campioni (a temperatura ambiente fino a 72 ore, a 4°C fino ad 1 mese, A -20°C e -80°C indefinitamente) che consente anche un più agevole trasporto degli stessi.

Le indagini di genetica molecolare prevedono, dopo appropriata conservazione, una successiva manipolazione ed infine analisi degli acidi nucleici. La manipolazione consiste in una vera e propria omogeneizzazione meccanica del tessuto (fig.2), mediante l'utilizzo di bisturi e pinze sterili, servendosi di una piastra *disposable* sterile come supporto. Questa operazione viene svolta preferibilmente sotto una cappa a flusso laminare per evitare contaminazioni da parte dell'ambiente esterno e dell'operatore stesso. Successivamente si passa all'estrazione degli acidi nucleici, DNA e RNA, tramite l'utilizzo di kit commerciali che si avvalgono dell'impiego di solventi e resine fissate su colonnine e danno ottime rese. Gli acidi nucleici così estratti potranno essere conservati a $-20^{\circ}/-80^{\circ}\text{C}$ per molti anni. Infine, l'analisi degli acidi nucleici si concretizza con lo screening del gene del trasportatore della serotonina (5-HTT). Tale gene è coinvolto nella gestione del riciclo della serotonina subito dopo la sua secrezione nelle sinapsi; infatti ne regola l'assorbimento a livello delle membrane cellulari.

Figura 1

Electroforesi su gel di agarosio 1% di DNA estratto da tessuti fissati con reagenti differenti: (1) congelati a -20°C ; (2-3) RNAlater; (4-5) etanolo 70%; (6-7) FFPE; (8) FAA. (M) marcatore di peso molecolare noto

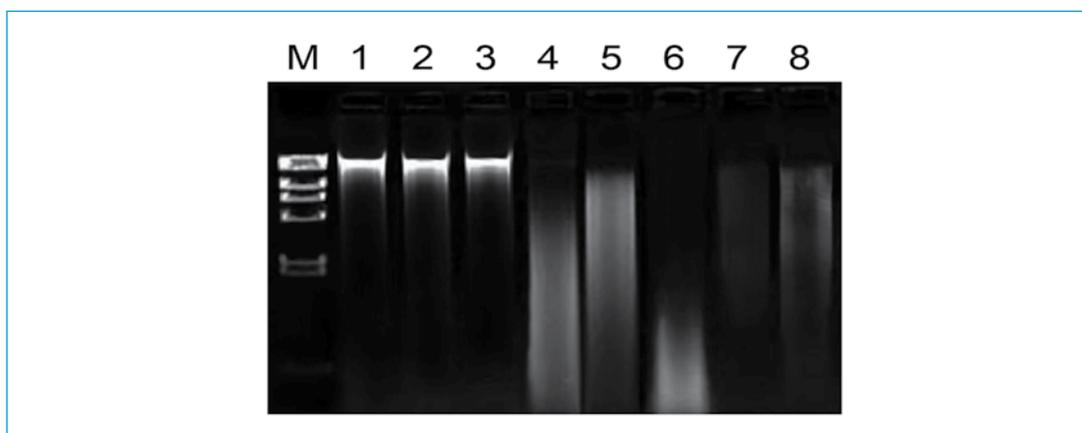




Figura 2
Omogeneizzazione meccanica del tessuto

Il gene 5-HTT, localizzato sul braccio lungo del cromosoma 17 (17q11.1-q12), è una proteina integrale di membrana, di circa 600

amminoacidi, con 12 domini transmembrana ed entrambi i terminali, carbossilico e amminico, citoplasmatici (**fig.3**).

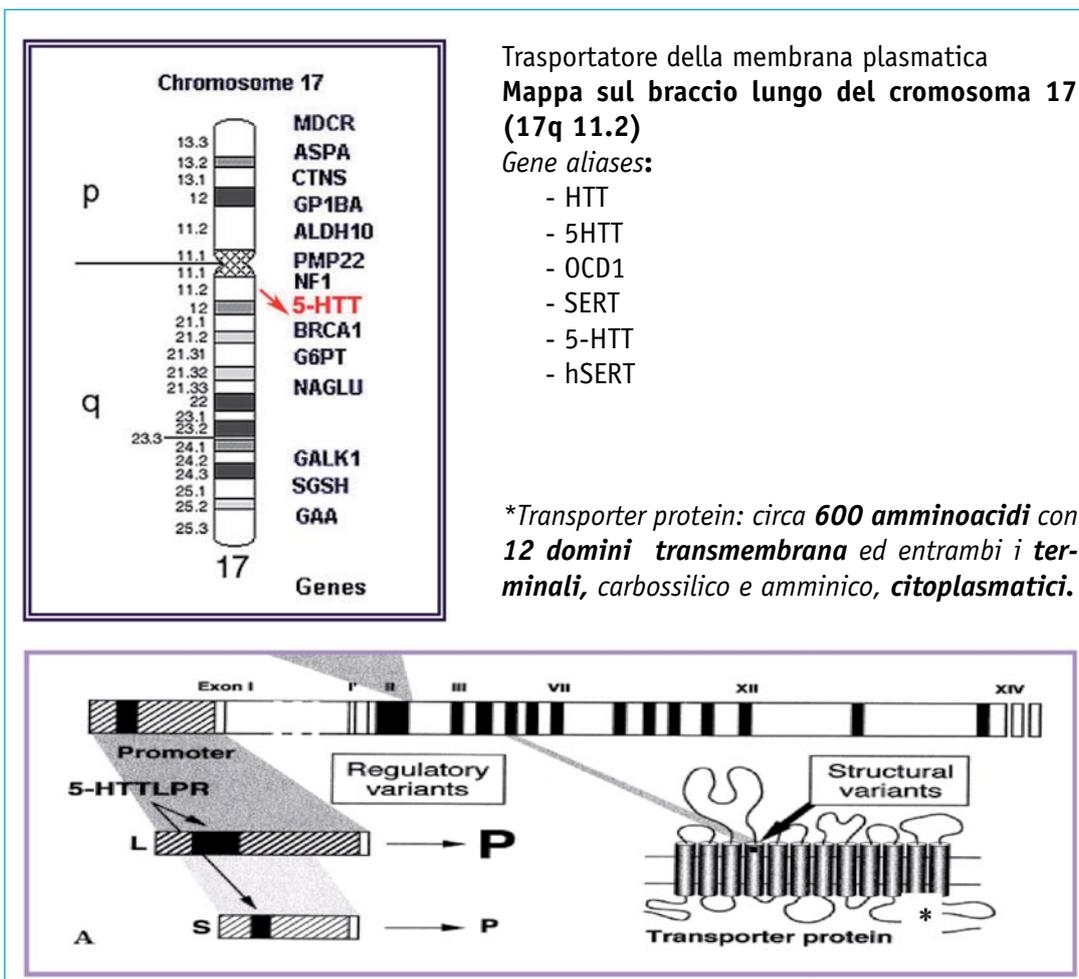
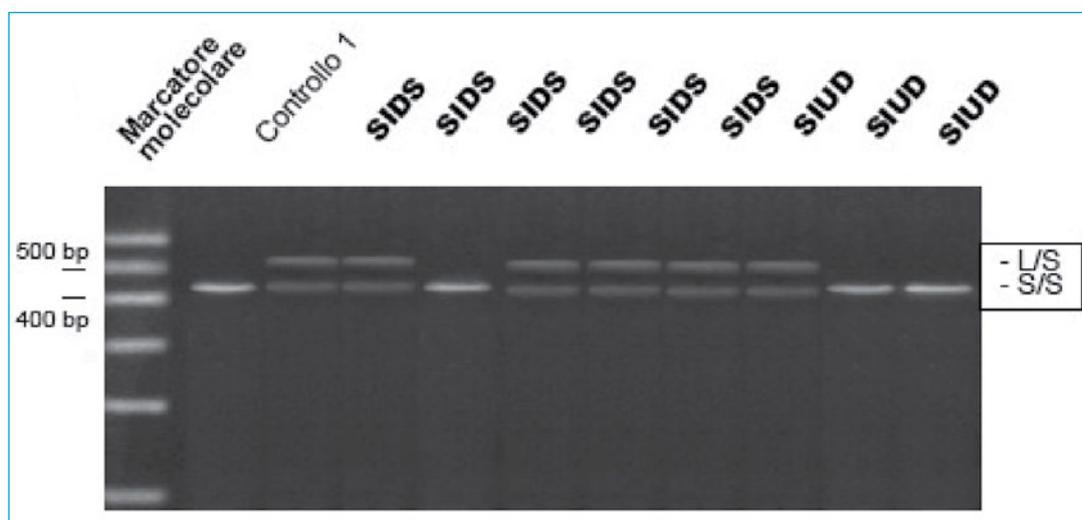


Figura 3
Gene del trasportatore della serotonina (5-HTT) Gene costituito da 14 esoni distribuiti lungo circa 35 kb. Codifica per una proteina di membrana* che ha il compito di regolare l'assorbimento della serotonina ovvero la modulazione del suo "re-uptake"

Figura 4

Elettroforesi su gel di agarosio 1% di risultati di polymerase chain reaction



Il fatto che sia espresso in modo transiente in molti distretti dell'organismo, durante lo sviluppo, riflette l'importanza della serotonina durante l'embriogenesi e conferma il ruolo del trasportatore come mediatore degli effetti di questo neurotrasmettitore nei processi di differenziamento, sinaptogenesi e plasticità neuronale (16). 5-HTT raggiunge i livelli massimi di espressione nella parte posteriore dell'encefalo, in corrispondenza dei nuclei del rafe (17).

L'espressione del gene 5-HTT è modulata da un polimorfismo costituito da una sequenza ripetuta in posizione 5' in prossimità del promotore e consiste in un'inserzione o delezione di un tratto di 44 paia di basi (bp) in-

dicato rispettivamente come varianti L (long) ed S (short). L'allele corto S corrisponde a 14 copie dell'unità ripetuta e l'allele lungo L corrisponde a 16 copie. La presenza dell'allele lungo corrisponde ad una maggiore attività del promotore (18) e, di conseguenza, ad un maggior re-uptake della serotonina.

Per valutare la presenza di queste varianti alleliche viene utilizzata la metodica polymerase chain reaction (PCR) che consente di ottenere, in breve tempo, un elevato numero di copie di uno specifico frammento di DNA. L'efficienza delle reazioni viene controllata analizzando un'aliquota di ciascun campione mediante elettroforesi su gel di agarosio (fig. 4).

BIBLIOGRAFIA

1. World Health Organization (WHO). Neonatal and perinatal mortality: country, regional and global estimates. 2006, pp 1-75.
2. International Stillbirth Alliance. Available at <http://www.stillbirthalliance.org/>
3. Grafe MR, Kinney H. Neuropathology associated with stillbirth. *Sem Neuropathol* 2002; 26: 83-88.
4. Maturri L, Minoli I, Lavezzi AM, Cappellini A, Ramos S et al. Hypoplasia of medullary arcuate nucleus in unexpected late fetal death (stillborn infants): a pathologic study. *Pediatrics*. 2002; 109: E43
5. Lavezzi AM, Ottaviani G, Mauri M, Maturri. Hypoplasia of the arcuate nucleus and maternal smoking during pregnancy, in perinatal and infant sudden unexpected death. *Neuropathology*. 2004; 24: 284-289.
6. Maturri L, Lavezzi AM. Pathology of the central autonomic nervous system in stillbirth. *Open Ped Med J* 2007; 1:1-9.
7. Lavezzi AM, Maturri L. Functional neuroanatomy of the human pre-Bötzinger complex with particular reference to sudden unexplained perinatal and infant death. *Neuropathology*. 2008; 28: 10-16.
8. Hunt CE. Genes and Sudden Infant Death Syndrome. *Pediatr Res*. 2004;56: 321-322.
9. Weese-Mayer DE, Ackerman M.J, Marazita ML, Berry-Kravis EM. Sudden Infant Death Syndrome: Review of implicated genetic factors. *Am J Med Genet* 2007; 143: 771-788.
10. Weese-Mayer DE, Berry-Kravis EM, Maher BS, Silvestri JM, Curran ME, Marazita ML. Sudden infant death syndrome: association with a promoter polymorphism of the serotonin transporter gene. *Am J Med Genet* 2003; 117: 268274.
11. Weese-Mayer DE, Zhou L, Berry-Kravis EM, Maher BS, Silvestri JM, Marazita ML. Association of the serotonin transporter gene with the Sudden Infant Death Syndrome: A haplotype analysis. *Am J Med Genet* 2003; 122A: 238-245.
12. Arnestad M, Crotti L, Rognum TO, Insolia R, Pedrazzini M, Ferrandi C, Vege A, Wang DW, Rhodes TE, George AL Jr, Schwartz PJ. Prevalence of long-QT syndrome gene variants in sudden infant death syndrome. *Circulation* 2007; 115: 361-367.
13. Ackerman MJ, Siu BL, Sturner WQ, Tester DJ, Valdivia CR, Makielski JC, Towbin JA. Post-mortem molecular analysis of SCN5A defects in sudden infant death syndrome. *JAMA* 2001; 286: 2264-2269.
14. Cronk LB, Ye B, Kaku T, Tester DJ, Vatta M, Makielski JC, Ackerman MJ. et al. Novel mechanism for sudden infant death syndrome: persistent late sodium current secondary to mutations in caveolin-3. *Heart Rhythm* 2007; 4: 161-166.
15. Casale V, Oneda R, Lavezzi AM, Maturri L. Optimisation of postmortem tissue preservation and alternative protocol for serotonin transporter gene polymorphisms amplification in SIDS and SIUD cases. *Exp Mol Pathol* 2010; 88: 202-205.
16. Hansson SR, Mezey E, Hoffman BJ: Serotonin transporter messenger RNA in the developing rat brain: early expression in serotonergic neurons and transient expression in non-serotonergic neurons. *Neuroscience* 1998; 83: 1185-1201.
17. Lavezzi AM, Casale V, Oneda R, Weese-Mayer DW, Maturri L. Sudden infant death syndrome and sudden intrauterine unexplained death: correlation between hypoplasia of raphe nuclei and serotonin transporter gene promoter polymorphism. *Ped Res* 2009; 66: 22-27.
18. Heils A, Teufel A, Petri S, Stöber G, Riederer P, Bengel D, Lesch KP. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem* 1996; 66: 2621-2624.

Tossicologia, modalità di raccolta e preparazione del materiale per lo studio tossicologico dei microinquinanti nella sindrome della morte improvvisa fetale e del lattante

Sebbene la morte improvvisa del lattante (Sudden infant death syndrome - SIDS) e la morte improvvisa fetale (Sudden Intrauterine Unexplained Death Syndrome - SIUDS) costituiscano le cause più rilevanti di morte nei paesi sviluppati entro il primo anno di età, i loro fattori etio-patogenetici sono tuttora sconosciuti. Questa carenza di informazioni è riconducibile alla mancanza di dettagliati studi postmortem, all'incompletezza di indagini genetiche ed alla tuttora assente determinazione di co-fattori scatenanti di tipo ambientale. Solo di recente, fattori ambientali (es. fumo, inquinamento atmosferico) sono stati indicati tra le possibili cause scatenanti l'insorgenza di queste sindromi (1). Questi possono interagire in modo complesso con specifici polimorfismi genetici e/o mutazioni dando origine a fenotipi suscettibili di morte natale/perinatale. Recentemente, la ricerca di nuovi fattori di rischio ha condotto all'investigazione dei possibili effetti avversi di un'esposizione cronica a distruttori endocrini (EDCs). L'organizzazione mondiale della sanità (WHO) e l'Endocrine Society indicano come prioritario l'incremento delle conoscenze su questa classe di composti, poiché la maggior parte di questi inquinanti sono caratterizzati dalla capacità di influenzare il sistema endocrino e interferire con importanti processi di sviluppo negli esseri umani e negli animali. In particolare, tutti siamo esposti a sostanze contenute in tantissimi oggetti di uso quotidiano che hanno la caratteristica di avere gli stessi effetti degli ormoni, interferendo sui sistemi endocrini e riproduttivi dell'uomo e della donna. Un interferente (o distruttore) endocrino è una sostanza esogena, o una miscela di sostanze, che altera la funzionalità del sistema endocrino, causando effetti avversi sulla salute di un organismo, oppure

della sua progenie o di una (sotto) popolazione. La riproduzione e lo sviluppo pre- e postnatale sono le fasi biologiche più sensibili agli effetti endocrini di questi composti. Essi sono in grado di: riprodurre l'attività degli ormoni fisiologici, partecipando alle stesse reazioni e provocando gli stessi effetti; bloccare, con azione competitiva, i recettori ormonali e quindi bloccare l'attività degli ormoni naturali; interferire con la sintesi, il trasporto, il metabolismo e l'escrezione degli ormoni, alterandone le concentrazioni fisiologiche e la funzione endocrina corrispondente. A questa categoria appartengono una vasta gamma di composti, tra cui steroidi estrogeni ed una vasta gamma di composti ad azione simil-estrogenica. In via generale è possibile raggruppare questi composti in quattro categorie principali: 1) farmaci ed estrogeni sintetici; 2) pesticidi, a loro volta distinguibili in organofosforici, carbammati, piretroidi sintetici, organoclorurati; 3) plastificanti e prodotti derivanti dalla combustione del PVC; 4) sostanze di origine industriale come: fenoli; ritardanti di fiamma. Possono presentare caratteristiche strutturali molto diverse, tanto che è impossibile evidenziare un motivo strutturale costante che consente di ricavare informazioni circa la loro tossicità, a partire dalla conformazione chimica. Sono tre le proprietà fondamentali che possono costituire una fonte di preoccupazione per un normale sviluppo fetale e neonatale. La prima è costituita dal ruolo svolto dagli ormoni nel normale sviluppo del feto. Molti EDCs possono passare facilmente dalla madre al feto e dal latte materno al neonato. L'esposizione a livelli di EDCs, che esercitano effetti minimi o transitori negli adulti, può produrre un danno permanente durante lo sviluppo pre-postnatale.

**Veronica Termopoli
Achille Capiello**

Laboratorio di Cromatografia Liquida-Spettrometria di Massa, Università degli Studi di Urbino, Urbino

La seconda fonte di preoccupazione deriva dalla persistenza ambientale di alcuni distruttori endocrini. Questi EDCs, resistendo ai processi di degradazione, possono risalire ai livelli più alti della catena alimentare. Avendo carattere lipofilo possono diffondere attraverso la membrana cellulare, legare eventualmente i recettori per gli ormoni steroidei e accumularsi a livello del tessuto adiposo, dove possono essere metabolizzati ed escreti. Quando, durante la gravidanza o l'allattamento, il deposito adiposo viene mobilizzato, il feto o il neonato potrebbe essere esposto ad elevati livelli di EDCs (2,3). Il loro bioaccumulo ha sicuramente una notevole importanza dal punto di vista tossicologico, ma per quanto riguarda ad esempio gli alimenti, è da citare il fatto che attraverso la sostanza grassa consumata insieme alla carne, al latte, ecc., vengono assunte numerose di queste sostanze derivanti dall'inquinamento ambientale.

La terza fonte di preoccupazione è la mobilità geografica dei distruttori endocrini. Recenti dati dimostrano chiaramente l'effetto deleterio esercitato sullo sviluppo fetale dall'esposizione a EDCs appartenenti al gruppo dei pesticidi organoclorurati. A causa della loro sopra citata resistenza alla degradazione, hanno una diffusione ubiquitaria negli ecosistemi. Nonostante siano stati banditi dai principali mercati, essi costituiscono ancora una fonte diffusa di inquinamento ambientale. L'esposizione prenatale a pesticidi organoclorurati è stata associata a ridotto peso alla nascita, a nascita pretermine, a ritardo della crescita, ad alterate funzioni psicomotorie e cognitive e ad effetti sullo stato ormonale (4-8).

Sono stati condotti diversi studi sul trasferimento trans-placentale che hanno portato alla determinazione dei livelli di organoclorurati nella placenta, nel sangue cordonale e nel tessuto adiposo materno (9-14). Una valutazione delle differenze sessuali nell'accumulo di composti organoclorurati, nei bambini alla nascita e all'età di 4 anni,

rivela una maggiore capacità in individui di sesso femminile per la ritenzione dei pesticidi assimilati durante l'allattamento. Recentemente, è stata anche ipotizzata una relazione fra ritardo nello sviluppo mentale ed esposizione a pesticidi organoclorurati e organofosforici. Tutti i dati finora citati dimostrano chiaramente come gli EDCs accumulati nella placenta, rilasciati nel circolo sanguigno materno o assunti con l'allattamento, possano costituire una minaccia per l'esito della gravidanza e lo sviluppo del neonato. A nostra conoscenza, non sono ancora disponibili studi riguardanti una correlazione fra esposizione a EDCs ed insorgenza di morte natale/perinatale. Come diretta conseguenza l'obiettivo principale di questo studio è stato quello di valutare la concentrazione e la distribuzione di alcuni EDCs direttamente sui tessuti provenienti dalle vittime di morte improvvisa, per evidenziare una possibile relazione tra esposizione a EDCs e rischio di manifestare una delle due sindromi. Questo studio di ricerca è nato per aggiungere un nuovo tassello a quelle che sono le attuali conoscenze in materia di SIDS e SIUDs. Lo studio è stato finanziato, fino ad ottobre 2013, con un progetto PRIN, ed è stato portato avanti in continua collaborazione con il Centro di Ricerca "Lino Rossi" dell'Università di Milano e l'Unità Operativa di Anatomia Patologica dell'Ospedale di Rovereto (TN). La scelta degli EDCs oggetto della ricerca è stata effettuata sia sulla base di dati bibliografici attestanti documentati effetti su un anormale sviluppo fetale, che sul territorio di origine dei donatori. La lista dei composti scelti include, come prioritari, EDCs appartenenti alla classe dei pesticidi organoclorurati. Questi sono una vasta categoria di insetticidi, antiparassitari, acaricidi, rodenticidi, erbicidi ampiamente utilizzati in agricoltura ed in ambito civile. Sono veleni dell'assone, cioè interferiscono con la trasmissione dell'impulso nervoso; provocano danni al cervello (alterazioni comportamentali), all'attività muscolare involontaria, deprimono l'attività

respiratoria agendo sul centro respiratorio; sensibilizzano il muscolo cardiaco all'azione delle catecolamine provocando aritmie; generano sovente un danno epatico e renale dovuto all'azione di alcuni metaboliti tossici; inoltre alcuni hanno un'azione carcinogenetica. I pesticidi clorurati sono liposolubili e si accumulano nel tessuto adiposo degli animali e dell'uomo. Quando vengono mobilizzati causano sindromi tossiche, anche a distanza di tempo dalla contaminazione, infatti il rilascio può avvenire in giorni, mesi o anni. Entrano nell'organismo facilmente, anche attraverso la cute intatta (specie quelli altamente tossici), le mucose, il tratto gastrointestinale e l'apparato respiratorio. Sono stati poi inclusi nella lista di EDCs oggetto della ricerca alcuni composti presenti sul sito dell' Agenzia Provinciale per la Protezione dell'Ambiente (APPA) della Provincia autonoma di Trento, che fornisce anno per anno una lista dei pesticidi più venduti e comunemente usati nel territorio.

Sono stati riscontrati fino a 9-10 principi attivi presenti contemporaneamente nelle polveri; alcuni prodotti, come il clorpirifos-etile ed il captan sono presenti nell'ambiente anche 3 mesi dopo il loro utilizzo. Le quantità sono sempre al di sotto dei limiti sanciti per l'alimentazione degli adulti, ma sempre maggiori rispetto al limite consigliato per l'alimentazione di bambini e lattanti. In totale sono stati scelti 25 composti e 9 standard interni deuterati per la valutazione dell'efficienza del metodo (**tab. 1**). La procedura di estrazione è stata testata, sviluppata e validata analiticamente su tessuti animali prima di essere applicata ai campioni reali. In particolare è stato usato fegato suino e cervello ovino per le prove di recupero. Ad ogni porzione di tessuto, 500 mg, è stata aggiunta una quantità nota di standard interni deuterati, composti non presenti in natura e dalle stesse caratteristiche chimico-fisiche degli analiti, questo per valutare l'efficienza di estrazione del metodo scelto e la ripetibilità nel tempo delle analisi strumentali.

Successivamente sono stati aggiunti 2 mL di esano, usato come solvente estraente, ottenendo una concentrazione finale di standard interni pari a 60 ng/mL. Il tessuto è stato infine omogeneizzato per 5 minuti con un omogeneizzatore dotato di un probe di teflon. Dopo l'omogeneizzazione, 1 mL di supernatante è stato trasferito in una cartuccia di estrazione in fase solida (SPE) preventivamente condizionata con 4 mL di esano, stesso solvente usato per l'estrazione. Dopo il passaggio del campione la cartuccia è stata asciugata sotto vuoto per 15 minuti. Quando il campione passa attraverso la fase solida della cartuccia SPE gli analiti vengono concentrati sulla superficie del materiale adsorbente mentre gli altri composti presenti nel campione eluiscono senza interagire. Il risultato è la purificazione e la concentrazione delle sostanze isolate dal materiale adsorbente. Ciò può essere ottenuto grazie ad interazioni specifiche tra i gruppi funzionali dei composti e il substrato della fase solida. Il campione viene fatto passare attraverso la cartuccia in modo che i diversi composti in esso presenti possano interagire con la superficie adsorbente venendo trattenuti o meno a seconda della loro capacità di stabilire interazioni. Si ha ritenzione quando la fase solida riesce ad immobilizzare alcuni dei composti presenti nel campione; la ritenzione cambia in funzione del tipo di adsorbente o del solvente utilizzato. Dopo l'asciugatura della cartuccia si è passati allo step di eluizione dei composti target. L'eluizione è il processo di rimozione delle sostanze isolate dall'adsorbente mediante il passaggio nella cartuccia di un solvente opportuno. La scelta viene fatta sempre sulla proprietà di maggiore "affinità". È stato quindi scelta una miscela di solventi (2 mL) ancora più affine agli analiti, per promuovere il loro passaggio dalla fase stazionaria al solvente, esano:diclorometano (1:1, v/v). Successivamente l'eluato è stato portato a volume finale di 200 µL sotto leggero flusso di N₂. 1 µL di estratto è stato quindi iniettato nel sistema gas cromatografico per

l'analisi strumentale. La gascromatografia è una tecnica di separazione per miscele complesse, adatta a composti di peso molecolare medio/piccolo, termostabili e facilmente vaporizzabili. Questa tecnica facilita il riconoscimento dei composti presenti all'interno della miscela stessa, separandoli in base alle diverse affinità chimico-fisiche. Il campione viene introdotto all'interno di un complesso sistema (fig. 1), dove la separazione viene effettuata attraverso una colonna cromatografica. Il risultato della separazione GC-MS ottenuta è mostrato in fig. 2. Sulle ascisse sono presenti i tempi di uscita di ogni composto, mentre sulle ordinate l'intensità del segnale. Successivamente è stata analizzata una matrice reale, in questo caso fegato di maiale, fortificata artificialmente con una concentrazione nota di EDCs selezionati. Come si può notare dal cromatogramma presente in fig 3, la matrice maschera parzialmente o completamente gli analiti, rendendo difficile l'identificazione e ancora più difficile la quantificazione. Per poter essere più specifici e minimizzare l'effetto della matrice, abbiamo utilizzato un sistema che invece di utilizzare una singola colonna, ne utilizza due in serie, chiamato GCxGC. La prima colonna ha le stesse caratteristiche di una colonna utilizzata per la GC a singola dimensione, tutto ciò che viene eluito dalla prima colonna viene inviato alla seconda colonna che ha caratteristiche opposte alla prima. Così se nella prima colonna non tutti i composti sono stati separati, dando luogo a picchi coeluiti, è probabile che questi composti siano più affini alle caratteristiche della seconda colonna, aumentando la probabilità che si separino in questo secondo stadio. La differenza fondamentale sta nella lettura del cromatogramma, in questo caso bidimensionale, ovviamente molto più complesso della singola dimensione. Nel cromatogramma bidimensionale, mostrato in fig. 2, sia sull'asse x che sull'asse y si hanno i tempi di ritenzione delle due colonne, i composti target possono essere identificati come

macchie di diversa forma e colore (fig. 4) che corrispondono a diverse concentrazioni. La stessa porzione di fegato fortificata artificialmente è stata analizzata in gas cromatografia bidimensionale, e come si può chiaramente vedere dal cromatogramma mostrato in fig. 5, tutti i composti di interesse sono totalmente isolati dalla matrice, la quale viene identificata con la banda di colore rosso presente al lato destro del cromatogramma. Per aumentare ulteriormente la specificità dell'analisi gas cromatografica sia in singola che in bi-dimensione, è stato utilizzato come rivelatore per l'identificazione e la quantificazione dei composti selezionati, la spettrometria di massa a ionizzazione elettronica. La spettrometria è una tecnica analitica di delucidazione strutturale basata sulla ionizzazione della molecola e sulla sua successiva frammentazione in ioni di diversa massa/carica. Ogni molecola si frammenterà in un modo univoco, dando luogo ad uno spettro di massa caratteristico per ogni composto. Grazie a questa caratteristica di univocità e riproducibilità spettrale ogni composto può essere confrontato per il riconoscimento con delle banche dati commercialmente disponibili. Il campione viene ionizzato mediante un fascio di elettroni emessi da un filamento caldo di tungsteno attraversato da corrente e convogliati all'interno della sorgente che contiene il campione gassoso. La frazione di elettroni che non urta contro le molecole di campione è raccolta da un anodo, le molecole di campione che non sono ionizzate sono allontanate dalla pompa ad alto vuoto, mentre quelle ionizzate sono accelerate e convogliate verso l'analizzatore. Prima dell'analisi dei campioni reali è stata posta particolare attenzione alla procedura di validazione del metodo per entrambi i sistemi di analisi, GC-MS e GCxGC-MS. Questa fase è di fondamentale importanza per ottenere risultati precisi ed accurati da un punto di vista sia qualitativo che quantitativo. La procedura di validazione è stata eseguita seguendo direttive internazionali

come quelle elaborate dall' "International Conference of Harmonization (ICH)". In **tab. 2** sono mostrati i risultati ottenuti per l'analisi GC-MS e GCxGC-MS. Il metodo validato è stato successivamente applicato ai tessuti provenienti dalle vittime di morte improvvisa, con l'obiettivo di determinare la distribuzione e concentrazione di EDCs nei diversi tessuti analizzati (fegato, corteccia frontale). In **tab. 3** sono elencati i campioni reali analizzati, 10 campioni totali, raccolti tra settembre 2012 e settembre 2013. Tutti

i campioni reali sono stati estratti ed analizzati secondo le tecniche descritte sopra ed in **tab. 4** sono riassunti i risultati finali ottenuti. Quattro porzioni di corteccia frontale sono risultati positivi a sostanze esaminate. Vista la positività ottenuta su questi campioni, riuscire a determinare questi composti nei tessuti provenienti da casi di SIUDS e SIDS è fondamentale per cercare di comprendere meglio i meccanismi eziopatogenetici degli eventi mortali soprattutto dal punto di vista dei fattori di rischio ambientale.

Composto	t _r (min)	Peso molecolare
1) α-BHC	7.88	288
2) β-BHC	8.53	288
3) γ-BHC	8.65	288
4) δ-BHC	9.28	288
5) Heptachlor	10.65	373
6) Aldrin	11.79	362
7) Chlorpyrifos D10	11.90	360
8) Chlorpyrifos	12.04	350
9) Heptachlor epoxide	13.30	386
10) Captan D6	13.54	306
11) Chlorfenvinfos D10	13.54	369
12) Captan	13.64	300
13) Chlorfenvinfos	13.69	359
14) γ-Chlordane	14.36	406
15) α-Endosulfan D4	14.83	411
16) α-Endosulfan	14.92	407
17) α-Chlordane	15.01	406
18) Bisphenol A D16	15.91	244
19) Bisphenol A	16.12	228
20) p,p'-DDE D8	16.28	326
21) Dieldrin	16.32	378

Tabella 1

Elenco degli EDCs oggetto della ricerca

22) p,p'-DDE	16.37	316
23) Endrin	17.44	378
24) β -Endosulfan D4	17.77	411
25) β -Endosulfan	17.83	407
26) p,p'-DDD	18.23	318
27) Endrin aldehyde	18.46	378
28) Endosulfan sulphate	19.08	420
29) p,p'-DDT D8	19.17	362
30) p,p'-DDT	19.22	355
31) Endrin ketone	20.05	378
32) Methoxychlor D14	20.30	359
33) Methoxychlor	20.37	344
34) Boscalid	22.74	343

Figura 1

Schema di un generico sistema GC-MS.

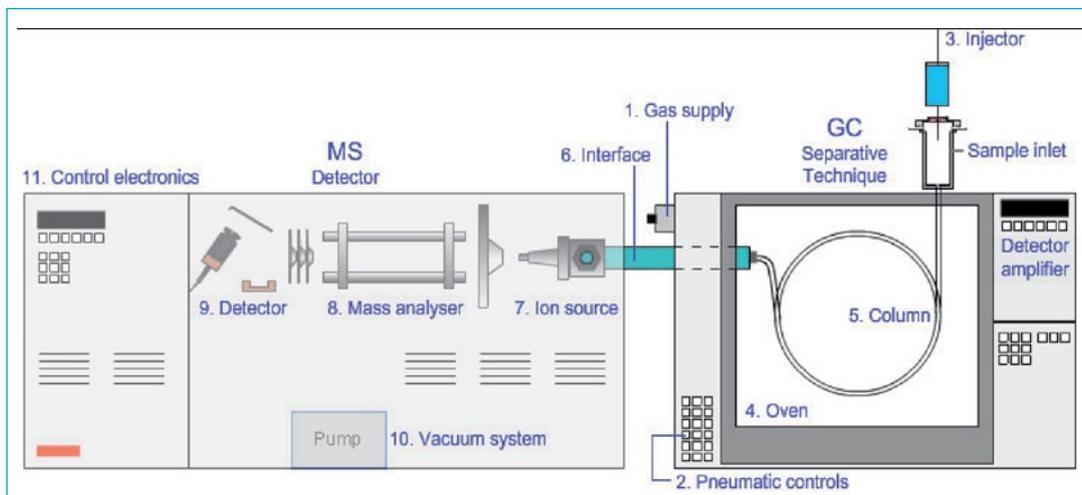
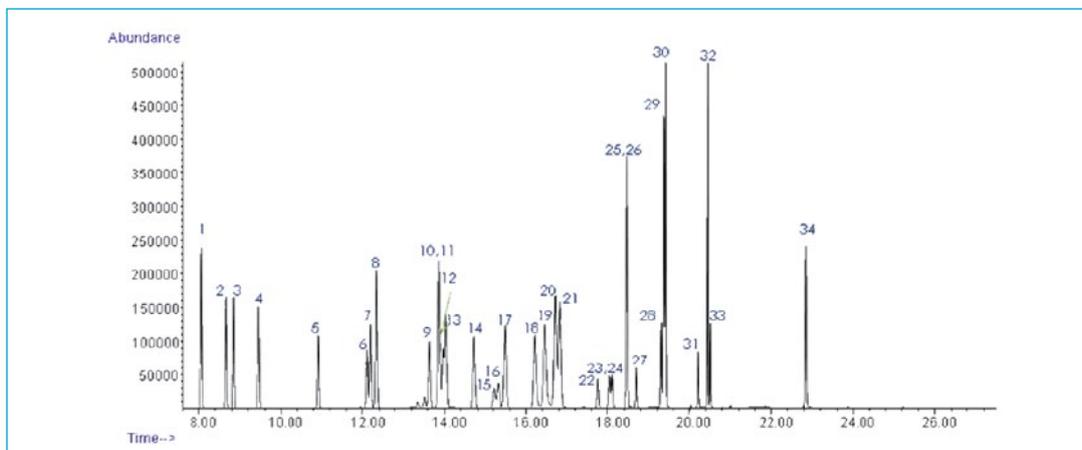


Figura 2

Separazione cromatografica di una miscela standard di EDCs selezionati ottenuta tramite analisi GC-MS



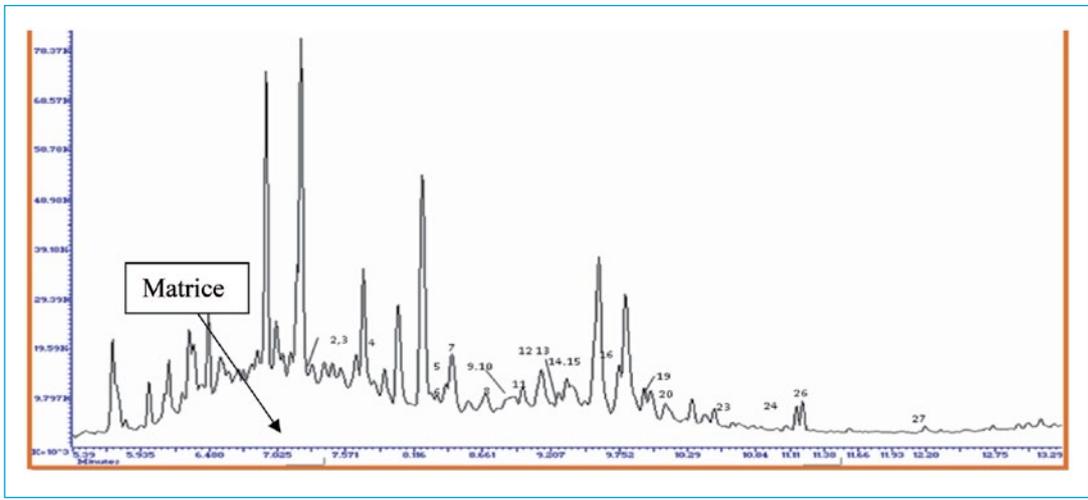


Figura 3
 Separazione cromatografica di un estratto di fegato di maiale fortificato artificialmente con una concentrazione nota di EDCs selezionati ottenuta attraverso un'analisi GC-MS

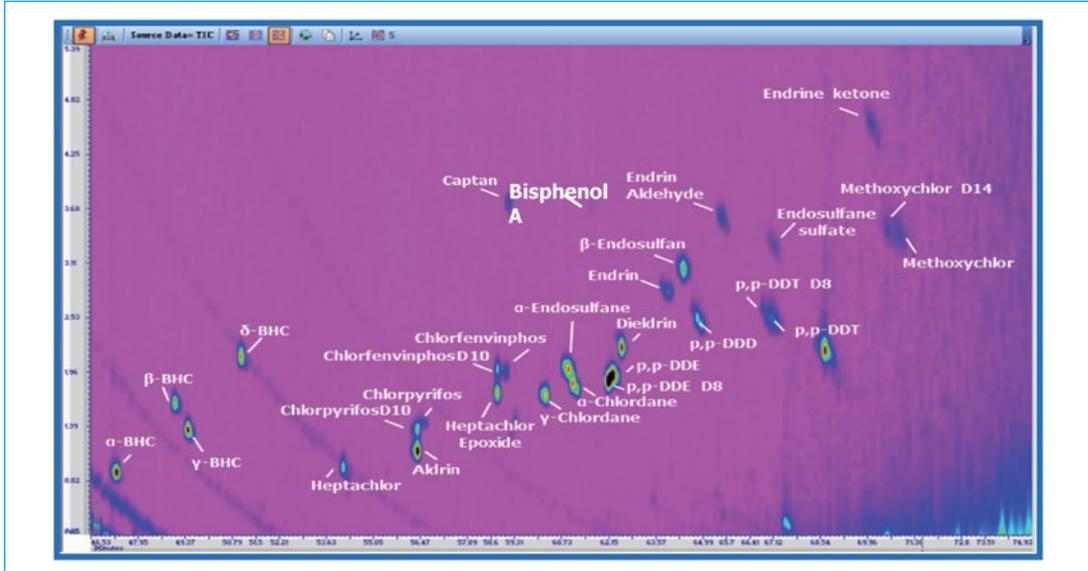


Figura 4
 Separazione cromatografica di una miscela standard di EDCs selezionati ottenuta attraverso un'analisi GCxGC-MS

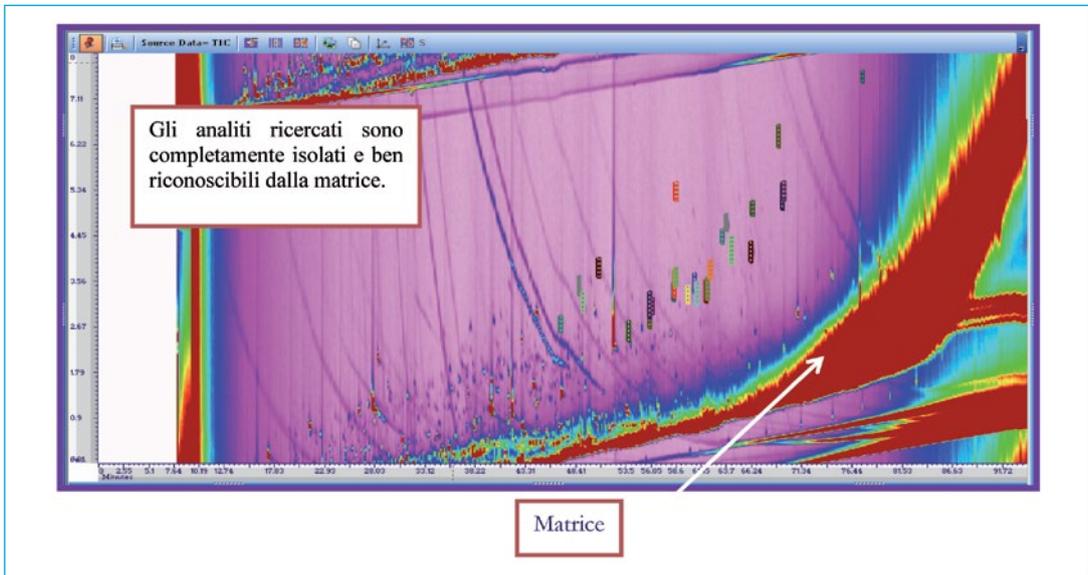


Figura 5
 Separazione cromatografica di un estratto di fegato di maiale fortificato artificialmente con una concentrazione nota di EDCs selezionati ottenuta attraverso un'analisi GCxGC-MS

Tabella 2

Dati relativi alla procedura di validazione del metodo di estrazione relativi ad entrambi i metodi di analisi utilizzati

GC-MS	GC-MS		GC-MS	GCxGC-MS
Compound / IS	Range linearity (pg/uL)	R ²	LOQs (ng/g)	LOQs (ng/g)
α-BHC / α-Endosulfan D4	20-20000	0.999014	0.4	0.2
β-BHC / α-Endosulfan D4	20-20000	0.999278	0.4	0.2
γ-BHC / α-Endosulfan D4	20-20000	0.999315	0.4	0.2
δ-BHC / α-Endosulfan D4	20-20000	0.999717	0.4	0.2
Heptachlor / α-Endosulfan D4	20-20000	0.997614	1.2	0.2
Aldrin / α-Endosulfan D4	20-20000	0.997323	1.0	0.4
Chlorpyrifos /Chlorpyrifos D10	20-20000	0.997482	0.4	0.8
Heptachlor Epoxide /p,p'-DDE D8	20-20000	0.978605	0.8	0.8
Chlorfenvinphos/Chlorfenvinfos D10	20-20000	0.998471	0.4	0.4
Captan /Captan D6	20-20000	0.996193	1.2	2.4
γ-Chlordane /p,p'-DDE D8	20-20000	0.99355	0.4	0.2
α-Endosulfan / α-Endosulfan D4	20-20000	0.996251	2.8	1.2
α-Chlordane /p,p'-DDE D8	20-20000	0.993132	0.3	0.2
Bisphenol A /Bisphenol A D16	20-20000	0.998745	3.2	4.0
p,p'-DDE /p,p'-DDE D8	20-20000	0.995535	0.8	0.2
Dieldrin /p,p'-DDE D8	20-20000	0.993456	2.4	2.4
Endrin /β-Endosulfan D4	20-20000	0.995618	1.2	0.8
β-Endosulfan /β-Endosulfan D4	20-20000	0.994143	2.8	0.4
p,p'-DDD /p,p'-DDT D8	20-20000	0.996351	0.8	0.2
Endrin aldehyde /p,p'-DDT D8	20-20000	0.99655	2.8	0.8
p,p'-DDT /p,p'-DDT D8	20-20000	0.998246	0.8	0.4
Endosulfan Sulfate /p,p'-DDT D8	20-20000	0.996351	2.8	2.4
Endrin ketone /Methoxychlor D14	20-20000	0.998606	2.0	0.8
Methoxychlor /Methoxychlor D14	20-20000	0.995834	2.0	0.4
Boscalid /Methoxychlor D14	20-20000	0.98961	2.8	2.4

Campione	Tessuto	Età	Replicati	Sesso
F3/12	Corteccia frontale	37+3 settimane	1	Femmina
3/12	Fegato, corteccia frontale	Intrapartum	2	Femmina
4/12	Fegato, corteccia frontale	1 mese	1	Maschio
1/13	Corteccia frontale	30 settimane	1	Maschio
2/13	Corteccia frontale	35 settimane	2	Femmina
3/13	Corteccia frontale	34 settimane +5 giorni	1	Femmina
4/13	Corteccia frontale	39 settimane	1	Femmina
6/13	Corteccia frontale	40 settimane +4 giorni	2	Maschio
7/13	Corteccia frontale	30 settimane +1 giorni	1	Femmina
8/13	Corteccia frontale	39 settimane	2	Maschio

Composti	F3/12	N4/12	F1/13	F2/13
Heptachlor	non rilevato	7.4	non rilevato	non rilevato
γ-chlordane	non rilevato	6.6	25	10.2
Endrin	non rilevato	non rilevato	non rilevato	non rilevato
α-chlordane	non rilevato	6.9	34	11.3
p,p'-DDE	non rilevato	non rilevato	non rilevato	non rilevato
α-endosulfan	667*	non rilevato	non rilevato	non rilevato
β-endosulfan	993*	non rilevato	non rilevato	non rilevato

Tabella 3

Lista dei campioni reali analizzati nell'anno 2012-2013

Tabella 4

Risultati ottenuti, nei campioni positivi, attraverso l'analisi GC-MS e GCxGC-MS dei campioni reali analizzati.

** GCxGC-MS*

BIBLIOGRAFIA

1. Hunt CE. Gene-environment interactions: implications for sudden unexpected deaths in infancy. *Review Arch Dis Child*. 2005; 90: 48-53.
2. Weiss, B. Endocrine Disruptors as a Factor in Mental Retardation. *Int Rev Res Ment Ret*. 2005; 30:195-223.
3. Stefanidou, M, Maravelias, C., Spiliopoulou, C, Human exposure to endocrine disruptors and breast milk. *Curr Drug Targets*. 2009; 9: 269-276.
4. Rylander, L, Stromberg, U, Hagmar, L, 2000. Lowered birth weight among infants born to women with high intake of fish contaminated with persistent organochlorine compounds. *Chemosphere* 2000; 40: 1255-1262.
5. Longnecker MP, Klebanoff MA, Brock JW, Guo X. 2005. Maternal levels of polychlorinated biphenyls in relation to preterm and small-for-gestational-age birth. *Epidemiology*. 2005; 16: 641-647.
6. Siddiqui MKJ, Srivastava S, Srivastava SP, Mehrotra PK, Mathur N, Tandon I. Persistent chlorinated pesticides and intra-uterine foetal growth retardation: a possible association. *Int Arch Occup Environ Health*. 2003; 76: 75-80.
7. Patandin S, Lanting CI, Mulder PG, Boersma ER, Sauer PJ, Weisglas-Kuperus N. Effects of environmental exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on cognitive abilities in Dutch children at 42 months of age. *J Pediatr*. 1999; 134: 33-41.
8. Asawasinsopon R, Prapamontol T, Prakobvitayakit O, Vaneesorn Y, Mangklabruks A, Hock B, The association between organochlorine and thyroid hormone levels in cord serum: a study from northern Thailand *Environ Int*. 2006; 32: 554-559.
9. Dekoning, EP, Karmaus W. PCB exposure in utero and via breast milk. A review. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 2000; 10: 285-293.
10. Chao HR, Wang SL, Lin LY, Lee WJ, Papke O. Placental transfer of polychlorinated dibenzop-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls in Taiwanese mothers in relation to menstrual cycle characteristics. *Food Chem Toxicol* 2007; 45: 59-265.
11. Shen H, Main KM, Virtanen HE, Damggard IN, Haavisto AM, Kaleva M. From mother to child: investigation of prenatal and postnatal exposure to persistent bioaccumulating toxicants using breast milk and placenta biomonitoring. *Chemosphere*. 2007; 67: S256-S262.
12. Pathak R, Sanvidhan SG, Rafat SA, Tripathi AK, Guleria K, Sharma CS, Makhijani, Meenu M, Banerjee BD. Endosulfan and Other Organochlorine Pesticide Residues in Maternal and Cord Blood in North Indian Population. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2008; 81: 216-219.
13. Bergonzi R, Specchia C, Dinolfo M, Tomasi C, De Palma G, Frusca T, Apostoli P. Distribution of persistent organochlorine pollutants in maternal and foetal tissues: Data from an Italian polluted urban area. *Chemosphere*. 2009; 76: 747-754.
14. Doucet J, Tague B, Arnold DL, Cooke GM, Hayward S, Goodyer CG. Persistent Organic Pollutant Residues in Human Fetal Liver and Placenta from Greater Montreal, Quebec: A Longitudinal Study from 1998 through 2006. *Environ Health Persp*. 2009; 4: 605-610.

Appendici

Legge 2 febbraio 2006 n. 31

Disciplina del riscontro diagnostico sulle vittime della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) e di morte inaspettata del feto (GU n. 34 del 10/02/2006)

Deliberazione della Giunta provinciale n. 603 del 23/03/2012

Approvazione dello schema di Convenzione tra la Provincia autonoma di Trento e il "Centro di Ricerca Lino Rossi per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale (del feto a termine - stillbirth - e neonatale) e della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS)" dell'Università degli Studi di Milano.

Deliberazione del Direttore generale

dell'Azienda provinciale per i servizi sanitari n. 161 dell'11/04/2013
Procedura aziendale per la sorveglianza epidemiologica della morte inaspettata perinatale e della sindrome della morte improvvisa del lattante

Legge 2 febbraio 2006, n. 31

Disciplina del riscontro diagnostico sulle vittime della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) e di morte inaspettata del feto

La Camera dei deputati ed il Senato della Repubblica hanno approvato;

GU n. 34
del 10/02/2006

IL PRESIDENTE DELLA REPUBBLICA

Promulga la seguente legge:

Art. 1.

1. I lattanti deceduti improvvisamente entro un anno di vita senza causa apparente e i feti deceduti anch'essi senza causa apparente dopo la venticinquesima settimana di gestazione devono essere prontamente sottoposti con il consenso di entrambi i genitori a riscontro diagnostico da effettuarsi nei centri autorizzati secondo i criteri individuati nell'articolo 2, a cui sono inviati gli organi prelevati. Le informazioni relative alla gravidanza, allo sviluppo fetale e al parto e, nel caso di sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS), alle situazioni ambientali e familiari in cui si è verificato il decesso, raccolte con un'indagine familiare, devono essere accuratamente registrate e vagliate, per il completamento diagnostico e per finalità scientifiche, dall'ostetrico-ginecologo, dal neonatologo, dal pediatra curanti e dall'anatomo patologo sulla base dei protocolli internazionali.

2. Il riscontro diagnostico di cui al comma 1 è effettuato secondo il protocollo diagnostico predisposto dalla prima cattedra dell'Istituto di anatomia patologica dell'Università di Milano. Il suddetto protocollo, per essere applicabile, deve essere approvato dal Ministero della salute.

Art. 2.

1. I criteri per l'autorizzazione dei centri di cui all'articolo 1 sono definiti, entro novanta giorni dalla data di entrata in vigore della presente legge, con decreto del Ministro della salute, previa intesa in sede di Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano.

2. Entro centottanta giorni dall'adozione del decreto di cui al comma 1, le regioni provvedono ad individuare, sul loro territorio, i centri scientifici, di carattere universitario od ospedaliero, che svolgono la funzione di centri di riferimento per il riscontro diagnostico dei lattanti deceduti improvvisamente senza causa apparente entro un anno di vita e dei feti deceduti senza causa apparente dopo la venticinquesima settimana di gestazione.

3. Per l'attuazione del presente articolo è autorizzata la spesa di 31.000 euro annui a decorrere dall'anno 2006.

Art. 3.

1. I risultati delle indagini svolte ai sensi dell'articolo 1 sono comunicati dai centri autorizzati alla prima cattedra dell'Istituto di anatomia patologica dell'Università di Milano che, nel rispetto delle regole sul trattamento dei dati personali, provvede ad istituire una banca dati nazionale e a trasmettere i dati così raccolti alla regione competente per territorio, ai medici curanti e ai parenti delle vittime.

2. Per l'attuazione del presente articolo è autorizzata la spesa di 36.000 euro annui a decorrere dall'anno 2006.

Art. 4.

1. Le autorità sanitarie nazionali e regionali provvedono, nell'ambito degli ordinari stanziamenti di bilancio:
 - a) a promuovere campagne di sensibilizzazione e di prevenzione per garantire una corretta informazione sulle problematiche connesse alla SIDS e ai casi di morte del feto senza causa apparente;
 - b) a predisporre appositi programmi di ricerca multidisciplinari che comprendano lo studio dei casi sul piano anamnestico, clinico, laboratoristico, anatomo patologico, istologico.
2. Il Ministero della salute, in collaborazione con le società scientifiche interessate e con le associazioni dei genitori, previa intesa in sede di Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano, provvede ad emanare le linee guida per la prevenzione della SIDS.
3. Nell'attuazione dei programmi di formazione continua in medicina di cui all'articolo 16-bis del decreto legislativo 30 dicembre 1992, n. 502, la Commissione nazionale per la formazione continua, di cui all'articolo 16-ter del medesimo decreto legislativo n. 502 del 1992, e successive modificazioni, provvede affinché ogni ostetrico, ginecologo, pediatra, neonatologo, anatomo patologo, istologo, medico di base e personale infermieristico conseguia crediti formativi in materia di SIDS.
4. Al fine di garantire una migliore assistenza ai nuclei familiari colpiti da casi di SIDS o di morte del feto senza causa apparente, le regioni possono prevedere progetti di sostegno psicologico ai familiari delle vittime, anche facilitando i contatti con le associazioni delle famiglie toccate da esperienze analoghe.
5. Dall'attuazione del presente articolo non devono derivare nuovi o maggiori oneri a carico della finanza pubblica.

Art. 5.

1. Agli oneri derivanti dagli articoli 2 e 3, pari a 67.000 euro annui a decorrere dall'anno 2006, si provvede mediante corrispondente riduzione dello stanziamento iscritto, ai fini del bilancio triennale 2006-2008, nell'ambito dell'unità previsionale di base di parte corrente "Fondo speciale" dello stato di previsione del Ministero dell'economia e delle finanze per l'anno 2006, allo scopo parzialmente utilizzando l'accantonamento relativo al Ministero dell'istruzione, dell'università e della ricerca.
2. Il Ministro dell'economia e delle finanze è autorizzato ad apportare, con propri decreti, le occorrenti variazioni di bilancio.

La presente legge, munita del sigillo dello Stato, sarà inserita nella Raccolta ufficiale degli atti normativi della Repubblica italiana. È fatto obbligo a chiunque spetti di osservarla e di farla osservare come legge dello Stato.

Data a Roma, addì 2 febbraio 2006

CIAMPI

Berlusconi, Presidente del Consiglio dei Ministri

Visto, il Guardasigilli: Castelli

Deliberazione della Giunta provinciale n. 603 del 23/03/2012

Approvazione dello schema di convenzione tra la Provincia autonoma di Trento e il "Centro di ricerca Lino Rossi per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale (del feto a termine - stillbirth - e neonatale) e della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS)" dell'Università degli Studi di Milano

LA GIUNTA PROVINCIALE

Premesso che la morte in culla (Sindrome della morte improvvisa del lattante - Sudden Infant Death Syndrome, il cui acronimo è SIDS) e la morte inaspettata del feto (Sudden Intrauterine Unexplained Death, il cui acronimo è SIUD) sono due tra i più gravi ed ancora poco conosciuti problemi della medicina moderna. La SIDS colpisce inaspettatamente i lattanti dal mese all'anno di vita, mentre la SIUD provoca l'aborto, senza causa apparente, dei feti dopo la venticinquesima settimana di gestazione.

Dato atto che la morte improvvisa del feto, nelle nazioni più sviluppate, secondo recenti dati dell'OMS (Neonatal and Perinatal Mortality, Ginevra 2006), ha l'incidenza di un caso ogni 100-200 gravidanze. Essa si manifesta nel 90% dei casi nelle ultime settimane di gestazione e nel 10% durante il travaglio; il 50-75% di tali morti improvvise risulta inspiegabile a causa principalmente della mancanza di approfondite indagini specie anatomo-patologiche. La morte fetale inaspettata e "inspiegabile" al termine della gravidanza è quindi la singola causa di decesso più frequente nel periodo perinatale nel mondo occidentale. La sua incidenza è circa 10 volte superiore a quella della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS o "morte in culla") che colpisce un lattante apparentemente sano ogni 750-1000 nati e si pone come la più frequente causa naturale di decesso nel primo anno di vita. Nel complesso l'incidenza della morte inaspettata ed inspiegabile perinatale e della SIDS è valutabile intorno ad un caso ogni 120-150 bambini; trattasi pertanto di uno dei maggiori problemi socio-sanitari e scientifici della medicina moderna, ancora irrisolto. Secondo l'OMS molte di queste morti, per la maggior parte "invisibili", sono evitabili.

Considerata la rilevanza socio-sanitaria dei casi di SIDS e della morte inaspettata del feto in termini di conseguenze emotive devastanti per i familiari e in termini di costi per le derivanti terapie di sostegno medico-psicologico, da sommarsi peraltro all'immaturo perdita di un numero elevato di potenziali individui produttivi.

Preso atto che per favorire la conoscenza di queste due gravissime e nefaste patologie e, quindi, essere in grado di prevenirle è stata promulgata la Legge 2 febbraio 2006, n. 31 "DISCIPLINA DEL RISCONTRO DIAGNOSTICO SULLE VITTIME DI SIDS E DI MORTE INASPETTATA DEL FETO".

Considerato che la predetta Legge dispone che:

- i lattanti deceduti entro un anno di vita senza causa apparente e i feti deceduti anch'essi senza causa apparente dopo la venticinquesima settimana di gestazione devono essere prontamente sottoposti con il consenso di entrambi i genitori a riscontro diagnostico da effettuarsi nei centri autorizzati a cui sono inviati gli organi prelevati;

- le Regioni/Province Autonome provvedano ad individuare i centri scientifici che svolgano la funzione di centri di riferimento per il riscontro diagnostico di cui al precedente punto;
- siano avviate specifiche indagini clinico-epidemiologiche e che i risultati delle stesse vengano inviati alla prima cattedra dell'Istituto di anatomia patologica dell'Università di Milano per l'istituzione di una banca dati nazionale;
- siano promosse campagne di sensibilizzazione e di prevenzione per garantire una corretta informazione sulle problematiche connesse a SIDS e ai casi di morte del feto senza causa apparente;
- siano definiti appositi programmi di ricerca multidisciplinari che comprendano lo studio dei casi sul piano anamnestico, clinico, laboratoristico, anatomo patologico, istologico;
- l'Istituto di anatomia patologica dell'Università di Milano ha funzioni di centro di riferimento nazionale per la raccolta dei dati e delle informazioni raccolti dalle Regioni e Province autonome.

Rilevata la necessità di avviare, in attuazione di quanto disposto dalla citata Legge 2 febbraio 2006, n. 31, un progetto di ricerca inerente la specifica tematica che si articoli sui seguenti filoni fondamentali:

- 1 Studio anatomo-clinico
- 2 Studio di genetica e di biologia molecolare
- 3 Studio epidemiologico con l'ausilio della Banca Dati
- 4 Campagna di sensibilizzazione rivolta agli operatori sanitari e alle famiglie per una riduzione del rischio di morte fetale inaspettata e di SIDS
- 5 Studio tossicologico dei fattori di rischio xenobiotici.

Riconosciuto peraltro che la tipologia di intervento possa costituire un'esperienza innovativa in quanto orientata a realizzare accertamenti approfonditi e sistematici al fine di ottenere e diffondere informazioni utili per la riduzione del rischio SIDS e di morte inaspettata del feto, così come definito a livello internazionale e raccomandato e stabilito dalla Legge 2 febbraio 2006, n. 31.

Considerato che la Provincia Autonoma di Trento con l'attuazione della Legge 31/2006 può partecipare al progetto mondiale in corso di attuazione da parte dell'International Stillbirth Alliance dell'Università di Harvard, USA.

Preso atto che le funzioni attribuite dalla Legge 31/2006 all'Istituto di anatomia patologica dell'Università degli Studi di Milano, in seguito a riorganizzazione interna della Facoltà e in accordo con il Ministero della Salute sono di fatto passate al Centro di ricerca 'Lino Rossi' per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale (del feto a termine -stillbirth- e neonatale) e della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) dell'Università degli studi di Milano.

Valutato che in Provincia di Trento non sono presenti centri scientifici di carattere universitario od ospedaliero che svolgono la funzione di centro di riferimento per il riscontro diagnostico dei lattanti (entro un anno di vita) e dei feti (dopo la venticinquesima settimana) deceduti improvvisamente senza causa apparente.

Ravvisata quindi la necessità di stipulare tra la Provincia autonoma di Trento e il Centro di Ricerca "Lino Rossi" dell'Università degli Studi di Milano un apposita Convenzione, il cui testo è parte integrante del presente atto (Allegato 1), al fine di definire i termini della collaborazione tra i due Enti nell'ambito degli interventi di ricerca e di prevenzione primaria che saranno attivati in ottemperanza di quanto previsto dalla Legge 2 febbraio, n. 31.

Visto l'art. 16 bis della Legge Provinciale 30 novembre 1992, n. 23 che prevede la possibilità di concludere accordi per le pubbliche Amministrazioni allo scopo di disciplinare lo svolgimento in collaborazione di attività di interesse comune.

Dato atto che:

- con nota del Servizio Organizzazione e qualità delle attività sanitarie prot. n. 753854 di data 22 dicembre 2011, in ottemperanza a quanto previsto dalla Legge 2 febbraio 2006, n.31 è stato proposto al Centro di Ricerca "Lino Rossi" dell'Università degli Studi di Milano, di stipulare una Convenzione per la presentazione e l'attuazione di un progetto sulla specifica tematica relativa allo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale (del feto a termine stillbirth- e neonatale) e della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS)
- in risposta a tale richiesta, il Centro di Ricerca "Lino Rossi" dell'Università degli Studi di Milano ha dato la propria disponibilità con nota n. 104738 di data 21 febbraio 2012.

Si ritiene, dunque, di stipulare una Convenzione con il Centro di Ricerca "Lino Rossi" dell'Università degli Studi di Milano per la presentazione e l'attuazione di un progetto sulla specifica tematica relativa allo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale (del feto a termine -stillbirth- e neonatale) e della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS). La Convenzione prevede una durata di due anni e un impegno di spesa da parte della Provincia autonoma di Trento pari a euro 31.000,00 annui per un importo complessivo pari a euro 62.000,00.

L'importo annuo sarà versato in un'unica soluzione dietro presentazione di regolari note di addebito e rendicontazione delle spese sostenute, corredata da una relazione annua sull'attività svolta dal Centro "Lino Rossi" a favore della Provincia autonoma di Trento.

I risultati inventivi della ricerca saranno di proprietà congiunta dei Soggetti coinvolti. È fatta salva la facoltà di utilizzo dei Soggetti coinvolti dei risultati ottenuti per esclusivi scopi di ricerca interna. In ogni opera, scritto o prodotto relativo al progetto deve essere menzionata la Provincia autonoma di Trento, quale ente patrocinante e finanziatore del progetto stesso.

Tutto ciò premesso;

- vagliate ed assunte le predette valutazioni;
- visti gli atti citati in premessa;
- vista la Legge 2 febbraio 2006, n. 31 recante "Disciplina del riscontro diagnostico sulle vittime della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) e della morte inaspettata del feto"
- vista la Legge provinciale 30 novembre 1992, n. 23;
- visto l'art. 55 della legge provinciale 14 settembre 1979, n. 7 e l'articolo 26 comma3 del Regolamento di contabilità approvato con D.P.P. 29 settembre 2005 n. 18 -48/Leg.;
- visto l'articolo 24, comma 2, della Legge provinciale n. 16 del 23 luglio 2010,
- a voti unanimi, espressi nelle forme di legge,

d e l i b e r a

- 1 di approvare lo schema Convenzione tra la Provincia Autonoma di Trento e il Centro di Ricerca "Lino Rossi" dell'Università degli Studi di Milano di cui all'allegato 1) parte integrante e sostanziale del presente provvedimento, per la definizione e l'attuazione del progetto

- di ricerca inerente la specifica tematica della SIDS (Sindrome della morte improvvisa del lattante) e della morte inaspettata del feto;
- 2 di dare atto che la Convenzione di cui al punto 1) ha durata biennale con decorrenza a partire dal 16 aprile 2012 nelle more della stipula della stessa;
 - 3 di dare atto che il testo della Convenzione è stata condiviso dalle parti;
 - 4 di incaricare il Dirigente del Servizio Organizzazione e qualità delle attività sanitarie a sottoscrivere la Convenzione di cui al punto 1);
 - 5 di dare atto che la partecipazione di spesa annua prevista dalla Convenzione di cui al precedente punto 1) è di Euro 31.000,00 che sarà versato in un'unica soluzione dietro presentazione di regolari note di addebito e rendicontazione delle spese sostenute, corredata da una relazione annua sull'attività svolta dal Centro "Lino Rossi" a favore della Provincia autonoma di Trento;
 - 6 di impegnare l'importo di euro 62.000,00 sul capitolo 444200 del bilancio provinciale di previsione per l'esercizio finanziario 2012, ai sensi dell'art. 55 della legge provinciale 14 settembre 1979, n. 7 e dell'articolo 26 comma 3 del Regolamento di contabilità approvato con D.P.P. 29 settembre 2005 n. 18 48/Leg.;
 - 7 di stabilire che i risultati inventivi della ricerca sono di proprietà congiunta dei Soggetti coinvolti. È fatta salva la facoltà di utilizzo dei Soggetti coinvolti dei risultati ottenuti per esclusivi scopi di ricerca interna. In ogni opera, scritto o prodotto relativo al progetto deve essere menzionata la Provincia autonoma di Trento, quale ente patrocinante e finanziatore del progetto stesso;
 - 8 di trasmettere il presente provvedimento all'Azienda provinciale per i servizi sanitari per gli adempimenti di competenza;
 - 9 di trasmettere il presente atto al Servizio contratti e gestioni generali per la predisposizione della Convenzione di cui al precedente punto 1) ai fini della sua stipulazione;
 - 10 di demandare al Servizio Organizzazione e qualità delle attività sanitarie l'attuazione di tutti gli adempimenti inerenti e conseguenti la stipulazione della Convenzione di cui al precedente punto 1).



PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO
AGENZIA PROVINCIALE PER GLI APPALTI E CONTRATTI

SERVIZIO CONTRATTI E APPROVVIGIONAMENTI

Sede legale: piazza Dante n. 15 - 38122 Trento - codice Fiscale e Partita I.V.A. 00337460224

Imposta di bollo assolta in modo virtuale giusta autorizzazione
n. 23850/97 del 2/7/1997 della Direzione delle Entrate per
la Provincia Autonoma di Trento - Sezione Staccata per l'importo
complessivo di € 29,24
inerante il presente contratto e relativi allegati dal

n. _____ al n. _____

ATTI CONTRATTUALI E ASSIMILATI

PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO

N. DI RACCOLTA **41714**

N. PRATICA **CONV 7436/555-12**

CONVENZIONE

**PER UN PROGRAMMA DI RICERCHE E INTERVENTI PER LA RIDUZIONE
DEL RISCHIO SIDS E DI MORTE INASPETTATA DEL FETO.-----**

Tra le Parti:

(1) PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO, con sede in Trento, piazza Dante
n. 15, codice fiscale n. 00337460224, rappresentata da:

- dott.ssa ANNA MARIA TRENTI, nata a Rovereto (TN) il 10 novembre 1958,
che interviene ed agisce nella sua qualità di Sostituto del Dirigente del Servizio
Organizzazione e qualità delle attività sanitarie, in forza di quanto disposto dal
d.p.g.p. 26 marzo 1998, n. 6-78/leg. e s.m. e dalle deliberazioni della Giunta
provinciale n. 7106 di data 19 giugno 1998 e n. 1127 di data 27 maggio 2011; -----

(2) UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO, con sede in Milano, via Festa
del Perdono n. 7, codice fiscale n. 80012650158 e partita I.V.A. n. 03064870151,
rappresentata da:

- prof. ENRICO PAOLO GUIDO DECLEVA, nato a Milano il 18 aprile 1941,
 Rettore *pro tempore* operante ai fini della presente convenzione tramite il Centro
di Ricerca Lino Rossi per lo Studio e la Prevenzione della Morte Inaspettata
Perinatale e della SIDS, con sede amministrativa presso il Dipartimento di Scienze
Chirurgiche, Ricostruttive e Diagnostiche - Via della Commenda 19, 20122
Milano (di seguito Centro "Lino Rossi");-----

- in conformità alla deliberazione della Giunta provinciale di Trento n. 603 di data
23 marzo 2012 e alla deliberazione del Consiglio di Amministrazione

**SOGGETTO A REGISTRAZIONE SOLO IN CASO D'USO, ai
sensi dell'art. 4 della parte seconda della Tariffa allegata al
D.P.R. n. 26 aprile 1986, n. 131 e.s.m.**

**ATTO CONCLUSO
IN DATA
- 9 LUG. 2012**

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
Il Rettore
- prof. Enrico Paolo Guido Decleva -

[Signature]

PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO
Servizio Organizzazione e qualità delle attività sanitarie
Il Sostituto del Dirigente
- dott.ssa Anna Maria Trenti -

[Signature]





PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO

AGENZIA PROVINCIALE PER GLI APPALTI E CONTRATTI

SERVIZIO CONTRATTI E APPROVVIGIONAMENTI

Sede legale: piazza Dante n. 15 - 38122 Trento - codice Fiscale e Partita I.V.A. 00337460224

ATTI CONTRATTUALI E ASSIMILATI

- pag. 2 -

dell'Università degli Studi di Milano di data 24 aprile 2012, che hanno autorizzato la stipulazione della presente convenzione;-----

- tenuto conto che, ai sensi dell'art. 1, comma 2, lettera a) del D.P.R. 3 giugno 1998, n. 252, la documentazione antimafia non è richiesta per i rapporti tra i soggetti pubblici di cui all'art. 1, comma 1, del medesimo decreto;-----

- visto il Documento Unico di Regolarità Contributiva INPS-INAIL (DURC) Codice Identificativo Pratica (C.I.P.) 20120458251888 emesso in data 11 maggio 2012;-----

si stipula la seguente

CONVENZIONE

ART. 1

Il Centro "Lino Rossi" svolge a favore del Servizio sanitario provinciale la funzione di Centro di riferimento per il riscontro diagnostico dei lattanti (entro un anno di vita) e dei feti (entro la venticinquesima settimana) deceduti improvvisamente senza causa apparente, ai sensi della Legge 2 febbraio 2006, n. 31.-----

ART. 2

Il Centro "Lino Rossi", assicura il coordinamento delle attività relative al programma per la stesura di indicazioni operative volte alla riduzione del rischio SIDS e di morte inaspettata del feto, tramite l'attuazione di un progetto integrato, attraverso il coinvolgimento e la collaborazione delle articolazioni dell'Azienda Provinciale per i servizi sanitari di Trento interessate, ed in particolare le UU.OO. Anatomia Patologica di Trento e Rovereto, le UU.OO. Ostetricia e Ginecologia di Trento e Rovereto e il Dipartimento Prevenzione di Trento, da svolgersi sotto la responsabilità della prof.ssa Anna Maria Lavezzi in qualità di Direttore del Centro

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Il Rettore

- prof. Enrico Paolo Guido Decleva -

PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO

Servizio Organizzazione e qualità delle attività sanitarie

Il Sostituto del Dirigente

- dott.ssa Anna Maria Trenti -





PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO

AGENZIA PROVINCIALE PER GLI APPALTI E CONTRATTI

SERVIZIO CONTRATTI E APPROVVIGIONAMENTI

Sede legale: piazza Dante n. 15 - 38122 Trento - codice Fiscale e Partita I.V.A. 00337460224

- pag. 3 -

Lino Rossi. -----

ART. 3

Il progetto per la stesura di indicazioni operative volte alla riduzione del rischio SIDS e di morte inaspettata del feto, articolato su 5 filoni fondamentali, come stabilito dall'art.4 della Legge 31:

1. Studio anatomico-clinico; -----
 2. Studio di genetica e di biologia molecolare;-----
 3. Studio epidemiologico con l'ausilio della Banca Dati;-----
 4. Campagna di sensibilizzazione rivolta agli operatori sanitari e alle famiglie per una riduzione del rischio di morte fetale inaspettata e di SIDS;
 5. Studio tossicologico dei fattori di rischio xenobiotici;-----
- sarà effettuato in collaborazione tra gli Enti Ospedalieri indicati ed il Centro "Lino Rossi".-----

ART. 4

A fronte degli impegni assunti dal Centro "Lino Rossi", la Provincia autonoma di Trento si impegna a versare l'importo annuo onnicomprensivo di Euro 31.000,00, (trentunomila/00) in un'unica soluzione dietro presentazione di regolari note di addebito e rendicontazione delle spese sostenute, corredata da una relazione annua sull'attività svolta dal Centro "Lino Rossi" in base alla presente convenzione. -----

Il suddetto importo dovrà essere accreditato sul conto corrente intestato all'Università degli Studi di Milano presso la BANCA INTESA SANPAOLO - Via Verdi, 8 - Milano - C/C 000000463971 - ABI 03069 - CAB 09400 - CIN G-IBAN IT97G0306909400000000463971 con indicazione nella causale del versamento "convenzione tra Provincia autonoma di Trento e Centro Lino Rossi".-

ART. 5

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Il Rettore

- prof. Enrico Paolo Guido Decleva -

PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO

Servizio Organizzazione e qualità delle attività sanitarie

Il Sostituto del Dirigente

- dott.ssa Anna Maria Trenti -



ATTI CONTRATTUALI E ASSIMILATI



PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO

AGENZIA PROVINCIALE PER GLI APPALTI E CONTRATTI

SERVIZIO CONTRATTI E APPROVVIGIONAMENTI

Sede legale: piazza Dante n. 15 - 38122 Trento - codice Fiscale e Partita I.V.A. 00337460224

- pag. 4 -

I risultati della ricerca saranno di proprietà congiunta delle Parti. È fatta salva la facoltà di utilizzo delle Parti dei risultati ottenuti per esclusivi scopi di ricerca interna. In ogni opera, scritto o prodotto relativo al progetto deve essere menzionata la Provincia autonoma di Trento, quale ente patrocinante e finanziatore del progetto stesso.-----

ART. 6

Nell'esecuzione della presente Convenzione il Centro "Lino Rossi" verrà a conoscenza di dati individuali ex art. 4, lettera a) del D.Lgs. n. 196/2003 che dovranno essere gestiti e custoditi secondo le disposizioni previste dal suddetto decreto.-----

La Provincia autonoma di Trento, ai sensi dell'art. 29 del D.Lgs. n. 196/2003, nomina, ad ogni conseguente effetto, il Centro "Lino Rossi" quale responsabile del trattamento dei dati convenuti con l'espletamento del presente incarico, per quanto di specifica competenza.-----

Art. 7

La presente convenzione avrà durata pari a 24 (ventiquattro) mesi a decorrere dal 26.4.2012 (ventisei aprile duemiladodici) nelle more della stipula della stessa.-----

ART. 8

(Tracciabilità dei flussi finanziari)

L'Università degli studi di Milano assume tutti gli obblighi di tracciabilità dei flussi finanziari di cui all'art. 3 della legge 13 agosto 2010, n. 136 e successive modifiche.-----

L'Università degli studi di Milano si impegna a dare immediata comunicazione alla Provincia ed al Commissariato del Governo per la provincia di Trento della notizia dell'inadempimento della propria controparte (subcontraente) agli obblighi

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Il Rettore

- prof. Enrico Paolo Guido Decleva -

PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO
Servizio Organizzazione e qualità delle attività sanitarie

Il Sostituto del Dirigente

- dott.ssa Anna Maria Trenti -



ATTI CONTRATTUALI E ASSIMILATI



PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO

AGENZIA PROVINCIALE PER GLI APPALTI E I CONTRATTI

SERVIZIO CONTRATTI E APPROVVIGIONAMENTI

Sede legale: piazza Dante n. 15 - 38122 Trento - codice Fiscale e Partita I.V.A. 00337460224

- pag. 5 -

di tracciabilità finanziaria.-----

Codice CIG 4263440DF9.-----

ART. 9

La presente convenzione è soggetta ad imposta di registro in caso d'uso ai sensi dell'articolo 4 della Parte II della Tariffa allegata al D.P.R. 26 aprile 1986, n. 131 e ad imposta di bollo fin dall'origine per ogni originale. L'imposta di bollo è a carico della Provincia autonoma di Trento.-----

Art. 10

La presente convenzione è redatta in duplice esemplare, dei quali uno è conservato presso l'Università degli Studi di Milano. -----

Redatto in due originali ad unico effetto, letto, accettato e sottoscritto. -----

Milano,

29 MAG. 2012

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Il Rettore

- prof. Enrico Paolo Guido Decleva -

Trento,

- 9 LUG. 2012

PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO

Servizio Organizzazione e qualità delle attività sanitarie

Il Sostituto del Dirigente

- dott.ssa Anna Maria Trenti-



CD/-AO/cr

ATTI CONTRATTUALI E ASSIMILATI

Deliberazione del Direttore generale dell'Azienda provinciale per i servizi sanitari n. 161 dell'11/04/2013

Procedura aziendale per la sorveglianza epidemiologica della morte inaspettata perinatale e della sindrome della morte improvvisa del lattante

Il Direttore dell'Area Sistemi di Governance riferisce quanto segue:

Come noto, la morte inaspettata del feto (Sudden Intrauterine Unexplained Death o SIUDS) e la morte improvvisa del lattante (Sudden Infant Death Syndrome o SIDS) rappresentano un rilevante problema socio-sanitario e scientifico della medicina moderna, le cui cause sono tuttora poco conosciute;

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), nelle nazioni più sviluppate, la SIUDS ha un'incidenza di un caso ogni 120-150 gravidanze, mentre la SIDS (o "morte in culla") colpisce un lattante apparentemente sano ogni 750-1000 nati, ponendosi come la più frequente causa naturale di decesso nel primo anno di vita;

Con l'obiettivo di aumentare le conoscenze in tema di SIUDS e SIDS, ai fini della loro prevenzione, è stata promulgata la Legge del 2 febbraio 2006, n. 31 *"Disciplina del riscontro diagnostico sulle vittime della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) e di morte inaspettata di feto"*, la quale prevede che i lattanti deceduti entro un anno di vita senza causa apparente e i feti deceduti, anch'essi senza causa apparente, dopo la venticinquesima settimana di gestazione debbano essere prontamente sottoposti, con il consenso di entrambi i genitori, a riscontro diagnostico da effettuarsi in centri autorizzati a cui vanno inviati gli organi prelevati;

La Legge prevede, altresì, che le Regioni/Province Autonome individuino, sul loro territorio, i centri scientifici, di carattere universitario od ospedaliero, che svolgano la funzione di centri di riferimento per il riscontro diagnostico e che i risultati delle indagini siano comunicati dai centri autorizzati al Centro di Ricerca "Lino Rossi" dell'Università degli Studi di Milano (a cui sono state passate le funzioni inizialmente attribuite alla prima cattedra dell'Istituto di anatomia patologica dell'Università di Milano), al fine di istituire una banca dati nazionale; Al fine di dare compimento a quanto disposto dalla citata Legge 31/2006, con D.G.P. del 23 marzo 2012, n. 603, la Provincia Autonoma di Trento (PAT) ha stipulato una apposita Convenzione con il Centro di Ricerca "Lino Rossi", nell'ambito della quale è stato attivato uno specifico programma di ricerca inerente la tematica in oggetto, incaricando l'Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari (APSS) di individuare le modalità operative di attuazione degli adempimenti di competenza;

A tale scopo, un apposito gruppo di lavoro, composto dal Dipartimento Materno-Infantile, dall'U.O. di Anatomia Patologica dell'Ospedale di Rovereto e dal Servizio epidemiologia clinica e valutativa, ha lavorato alla stesura del documento guida *"Sorveglianza epidemiologica della natimortalità (e morte perinatale) e della SIDS, come previsto dalla convenzione tra Provincia Autonoma di Trento e Centro di Ricerca Lino Rossi per lo studio e la prevenzione della morte fetale/perinatale e della morte improvvisa del lattante"*, da cui è stato possibile trarre gli elementi necessari per la stesura di una Procedura aziendale, nella quale descrivere in modo organico l'iter da seguire qualora si verifici, inaspettatamente e senza cause apparenti, il decesso di un lattante entro il primo anno di vita o una morte perinatale;

IL DIRETTORE GENERALE

Preso atto della relazione del Direttore dell'Area Sistemi di Governance;

Fatte proprie le motivazioni espresse dal proponente e condivisa, in particolare, la necessità

di definire, rispetto alla articolazione della APSS, le modalità operative di gestione degli adempimenti previsti dalla Legge 31/2006 e dalla Convenzione attualmente in essere fra PAT e Centro di Ricerca "Lino Rossi", in seguito al verificarsi di morti perinatali e decessi di lattanti nel primo anno di vita, senza cause apparenti,

DELIBERA

- 1 di approvare la "Procedura aziendale per la sorveglianza epidemiologica della morte inaspettata perinatale e della sindrome della morte improvvisa del lattante", il cui testo allegato costituisce parte integrante e sostanziale della presente deliberazione;
- 2 di incaricare le Direzioni di Struttura Ospedaliera, di Distretto e del Dipartimento di Prevenzione della diffusione capillare della procedura e della gestione degli aspetti operativi di propria competenza (adempimenti previsti dal Regolamento di Polizia Mortuaria, modalità di trasporto delle salme, ecc.);
- 3 di individuare l'U.O. di Anatomia Patologica di Rovereto quale struttura aziendale di riferimento per gli adempimenti previsti dalla Legge 31/2006 e dalla Convenzione in essere fra PAT e Centro di Ricerca "Lino Rossi".

Azienda Provinciale  per i Servizi Sanitari	AREA SISTEMI DI GOVERNANCE	
	PROCEDURA AZIENDALE PER LA SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA MORTE INASPETTATA PERINATALE E DELLA SINDROME DELLA MORTE IMPROVVISA DEL LATTANTE	Revisione 00
		27 marzo 2013
		Pagina 1 di 8



PROCEDURA AZIENDALE PER LA SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA MORTE INASPETTATA PERINATALE E DELLA SINDROME DELLA MORTE IMPROVVISA DEL LATTANTE

REVISIONE	REDAZIONE	VERIFICA E CONTROLLO	APPROVAZIONE
Data della revisione	Dr. Marco Ioppi Dr. Silvano Piffer Dr. Francesco Piscioi	Dr.sa Emanuela Zandonà Dr.sa Camilla Mattiuzzi	Data di Approvazione 27 marzo 2013
			Il Direttore Sanitario Dr. Eugenio Gabardi

Azienda Provinciale  per i Servizi Sanitari	AREA SISTEMI DI GOVERNANCE	
	PROCEDURA AZIENDALE PER LA SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA MORTE INASPETTATA PERINATALE E DELLA SINDROME DELLA MORTE IMPROVVISA DEL LATTANTE	Revisione 00
		27 marzo 2013
		Pagina 2 di 8

1 INDICE

1	INDICE	2
2	INTRODUZIONE	3
3	SCOPO	3
4	TERMINI E DEFINIZIONI.....	4
5	AMBITO DI APPLICAZIONE.....	4
6	RESPONSABILITA'	4
7	DESCRIZIONE DELLE ATTIVITA'	5
7.1	MORTI PERINATALI SENZA CAUSE APPARENTI: FETALI (DOPO LA 25 ^A SETTIMANA DI GESTAZIONE) O NEONATALI (ENTRO LA 1 ^A SETTIMANA DI VITA)	5
7.2	LATTANTI DECEDUTI IMPROVVISAMENTE ENTRO UN ANNO DI VITA SENZA CAUSA APPARENTE	6
8	RIFERIMENTI	7
9	ELENCO DEI DESTINATARI	7
10	DOCUMENTI ALLEGATI.....	7

Azienda Provinciale  per i Servizi Sanitari	AREA SISTEMI DI GOVERNANCE	
	PROCEDURA AZIENDALE PER LA SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA MORTE INASPETTATA PERINATALE E DELLA SINDROME DELLA MORTE IMPROVVISA DEL LATTANTE	Revisione 00
		27 marzo 2013
		Pagina 3 di 8

2 INTRODUZIONE

Come noto, la Legge del 2 febbraio 2006, n. 31 “Disciplina del riscontro diagnostico sulle vittime della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) e di morte inaspettata di feto”, prevede, all’articolo 1, che i lattanti deceduti entro un anno di vita senza causa apparente e i feti deceduti, anch’essi senza causa apparente, dopo la venticinquesima settimana di gestazione debbano essere prontamente sottoposti, con il consenso di entrambi i genitori, a riscontro diagnostico da effettuarsi in centri autorizzati a cui vanno inviati gli organi prelevati. Sempre l’articolo 1 stabilisce che le informazioni relative alla gravidanza, allo sviluppo fetale e al parto e, nel caso di sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS), alle situazioni ambientali e familiari in cui si è verificato il decesso, raccolte con un’indagine familiare, devono essere accuratamente registrate e vagliate, per il completamento diagnostico e per finalità scientifiche, dall’ostetrico-ginecologo, dal neonatologo, dal pediatra curanti e dall’anatomo-patologo sulla base dei protocolli internazionali.

La Legge prevede, altresì, che le Regioni/Province Autonome individuino, sul loro territorio, i centri scientifici, di carattere universitario od ospedaliero, che svolgano la funzione di centri di riferimento per il riscontro diagnostico e che i risultati delle indagini siano comunicati dai centri autorizzati al Centro di Ricerca “Lino Rossi” dell’Università degli Studi di Milano (a cui sono state passate le funzioni inizialmente attribuite alla prima cattedra dell’Istituto di anatomia patologica dell’Università di Milano), al fine di istituire una banca dati nazionale.

Rilevata, quindi, la necessità da parte della Provincia Autonoma di Trento (PAT) di avviare, in attuazione di quanto disposto dalla citata Legge 31/2006, un progetto di ricerca inerente la specifica tematica della sindrome della morte improvvisa del lattante e della morte inaspettata del feto, con Delibera della Giunta Provinciale del 23 marzo 2012, n. 603, è stata stipulata una apposita Convenzione tra la stessa Provincia e il Centro di Ricerca “Lino Rossi”, nell’ambito della quale è stato attivato un programma di ricerca che prevede:

1. uno studio anatomo-clinico;
2. uno studio di genetica e biologia molecolare;
3. uno studio epidemiologico con l’ausilio della Banca Dati;
4. una campagna di sensibilizzazione rivolta agli operatori sanitari e alle famiglie per una riduzione del rischio di morte fetale inaspettata e di SIDS;
5. uno studio tossicologico dei fattori di rischio xenobiotici.

Al fine di approfondire ed individuare le modalità corrette per assolvere agli adempimenti previsti dalla Legge 31/2006 e dalla presente Convenzione, un apposito gruppo di lavoro, composto dal Dipartimento Materno-Infantile, dall’U.O. di Anatomia Patologica dell’Ospedale di Rovereto e dal Servizio epidemiologia clinica e valutativa, ha elaborato il Documento Guida “*Sorveglianza epidemiologica della natimortalità (e morte perinatale) e della SIDS, come previsto dalla convenzione tra Provincia Autonoma di Trento e Centro di Ricerca Lino Rossi per lo studio e la prevenzione della morte fetale/perinatale e della morte improvvisa del lattante*”, che ha costituito il fondamento per la successiva stesura della presente Procedura aziendale.

3 SCOPO

Scopo della presente procedura è definire, rispetto alla articolazione della APSS, le responsabilità e le modalità di gestione operative degli adempimenti previsti dalla Legge 31/2006 e dalla

REVISIONE	REDAZIONE	VERIFICA E CONTROLLO	APPROVAZIONE
Data della revisione	Dr. Marco Ioppi Dr. Silvano Piffer Dr. Francesco Piscioi	Dr.sa Emanuela Zandonà Dr.sa Camilla Mattiuzzi	Data di Approvazione 27 marzo 2013
			Il Direttore Sanitario Dr. Eugenio Gabardi

<p>Azienda Provinciale</p>  <p>per i Servizi Sanitari</p>	<p>AREA SISTEMI DI GOVERNANCE</p> <p>PROCEDURA AZIENDALE PER LA SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA MORTE INASPETTATA PERINATALE E DELLA SINDROME DELLA MORTE IMPROVVISA DEL LATTANTE</p>	<p>Revisione 00</p> <p>27 marzo 2013</p> <p>Pagina 4 di 8</p>
--	--	---

Convenzione in essere fra PAT e Centro di Ricerca "Lino Rossi", in seguito al verificarsi di morti perinatali e decessi di lattanti nel primo anno di vita, senza cause apparenti.

4 TERMINI E DEFINIZIONI

Morte perinatale:

Si intende la morte inaspettata ed inspiegabile fetale (dopo la 25^a settimana di gestazione) e neonatale (entro la prima settimana di vita).

Sindrome della morte improvvisa intrauterina inspiegata (SIUDS o Unexplained stillbirth):

Si intende la morte fetale, dopo la 25^a settimana di gestazione, inaspettata ed inspiegabile, per cui non si individuano possibili cause siano esse fetali, placentari materne od ostetriche. Rappresenta il corrispettivo fetale della Sudden Infant Death Syndrome.

Sindrome della morte improvvisa del lattante (Sudden Infant Death Syndrome o SIDS):

Si intende la morte improvvisa e senza causa apparente del lattante apparentemente sano nel primo anno di vita.

5 AMBITO DI APPLICAZIONE

La presente procedura deve essere applicata da tutto il personale della APSS a vario titolo coinvolto:

- nella immediata gestione del caso di decesso improvviso e senza causa apparente sia che riguardi un lattante (entro un anno di vita), un feto (dopo la venticinquesima settimana) o un neonato (entro la prima settimana di vita);
- nell'effettuazione della successiva indagine epidemiologica riguardante sia il caso "indice", che i "controlli", come previsto dal protocollo di ricerca;
- nel supporto alla compilazione delle diverse schede relative al caso indice e ai "controlli", così come previsto dallo studio clinico.

6 RESPONSABILITA'

Tutti gli operatori sanitari (delle UU.OO. di Ostetricia e Ginecologia, di Pediatria, di Neonatologia e di Pronto Soccorso, di Trentino Emergenza 118 e di eventuali altre Unità Operative/Strutture), a vario titolo coinvolti nei casi disciplinati dalla Legge 31/2006, sono responsabili, ognuno per la parte di propria competenza, dell'applicazione delle indicazioni contenute nel documento.

L'U.O. di Anatomia Patologica dell'Ospedale di Rovereto, individuata quale struttura di riferimento della APSS per gli adempimenti previsti dalla Legge 31/2006, è responsabile di:

- effettuare i riscontri diagnostici sui presunti casi di SIUDS e di SIDS di tutta la Provincia di Trento;
- effettuare l'indagine clinico-epidemiologica a domicilio per i casi di SIDS, in collaborazione con il medico necroscopo, il ginecologo, il pediatra ed ogni altro operatore sanitario che ha avuto un ruolo nella gestione del caso;
- gestire i rapporti con il Centro di Ricerca Lino Rossi, ai fini dell'espletamento degli adempimenti previsti dalla Legge e dalla Convenzione sopramenzionate.

Le Direzioni di Struttura Ospedaliera, dei Distretti e del Dipartimento di Prevenzione sono responsabili della diffusione capillare del presente documento e della gestione degli aspetti organizzativi di propria competenza (adempimenti previsti dal Regolamento di Polizia Mortuaria, modalità di trasporto delle salme, ecc.).

<p>Azienda Provinciale</p>  <p>per i Servizi Sanitari</p>	<p>AREA SISTEMI DI GOVERNANCE</p> <p>PROCEDURA AZIENDALE PER LA SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA MORTE INASPETTATA PERINATALE E DELLA SINDROME DELLA MORTE IMPROVVISA DEL LATTANTE</p>	<p>Revisione 00</p> <p>27 marzo 2013</p> <p>Pagina 5 di 8</p>
--	--	---

7 DESCRIZIONE DELLE ATTIVITA'

Di seguito si riporta l'iter che deve essere seguito qualora si verifichi, inaspettatamente e senza cause apparenti, il decesso di un lattante entro il primo anno di vita o una morte perinatale senza, il quale si articola in diverse fasi, che vanno dalla tempestiva richiesta di riscontro diagnostico ai sensi della Legge 31/2006, alla raccolta o supporto alla raccolta di informazioni sul caso indice e sui relativi "controlli" nati vivi, così come previsto dallo studio epidemiologico.

7.1 MORTI PERINATALI SENZA CAUSE APPARENTI: FETALI (DOPO LA 25^A SETTIMANA DI GESTAZIONE) O NEONATALI (ENTRO LA 1^A SETTIMANA DI VITA)

A) ADEMPIMENTI FINALIZZATI ALLO STUDIO ANATOMO-PATOLOGICO

- Qualora si verifichi il decesso di un feto dopo la 25^a settimana di gestazione senza causa apparente, lo specialista ginecologo del punto nascita che ha gestito il caso deve richiedere l'effettuazione del riscontro diagnostico, previa acquisizione del consenso di entrambi i genitori aventi diritto (vedi Allegato 1). La richiesta di riscontro diagnostico, debitamente ed esaustivamente compilata, deve essere trasmessa alla propria Direzione di Struttura Ospedaliera, la quale, a sua volta, la fa pervenire all'U.O. di Anatomia Patologica dell'Ospedale di Rovereto, che è la struttura incaricata a livello aziendale della effettuazione di tali tipologie di indagini, dello studio della placenta (che pertanto deve essere fatta pervenire a tale Servizio) e della successiva compilazione delle schede di cui agli Allegati 2 e 3.
- Qualora si verifichi il decesso entro la prima settimana di vita di un neonato patologico alla nascita senza causa apparente, lo specialista neonatologo/pediatra che ne ha constatato la morte deve richiedere l'effettuazione del riscontro diagnostico, previa acquisizione del consenso di entrambi i genitori aventi diritto (vedi Allegato 1). La richiesta di riscontro diagnostico, debitamente ed esaustivamente compilata, deve essere tempestivamente trasmessa alla propria Direzione di Struttura Ospedaliera, la quale, a sua volta, la fa pervenire all'U.O. di Anatomia Patologica dell'Ospedale di Rovereto, che è la struttura incaricata a livello aziendale della effettuazione di tali tipologie di indagini e della successiva compilazione della scheda di cui all'Allegato 3. Lo specialista neonatologo/pediatra deve, altresì, dare immediata comunicazione dell'avvenuto decesso all'U.O. di Ostetricia e Ginecologia in cui è avvenuto il parto, affinché la stessa possa provvedere agli adempimenti di cui al successivo punto B).
- Il feto/neonato deve essere inviato il prima possibile all'U.O. di Anatomia Patologica di Rovereto, secondo le modalità già in essere nei singoli Presidi Ospedalieri della APSS. In attesa del trasporto dalla Morgue all'Anatomia Patologica di Rovereto, il feto/neonato deve essere mantenuto in luogo fresco, a temperatura non superiore a 4 C°.

B) ADEMPIMENTI FINALIZZATI ALLO STUDIO EPIDEMIOLOGICO

- Un medico ginecologo e un'ostetrica dell'U.O. di Ostetricia e Ginecologia che ha gestito il caso devono provvedere a:
 - compilare le specifiche schede per la raccolta dei dati anamnestici inerenti il caso (vedi Allegato 4), acquisendo le informazioni necessarie dal Certificato di Assistenza al Parto (Cedap), dalla cartella clinica e tramite colloquio con i genitori, ed inviarla tempestivamente all'U.O. di Anatomia Patologica di Rovereto entro massimo 2 giorni;
 - selezionare per ogni caso due "controlli" nati vivi omogenei per genere (es: maschio vs. maschio) e nazionalità (es: italiano vs. italiano; straniero vs. straniero), individuandoli fra i nati 5-7 giorni prima e 5-7 giorni dopo l'evento (per i punti nascita con meno nascite

<p>Azienda Provinciale</p>  <p>per i Servizi Sanitari</p>	<p>AREA SISTEMI DI GOVERNANCE</p> <p>PROCEDURA AZIENDALE PER LA SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA MORTE INASPETTATA PERINATALE E DELLA SINDROME DELLA MORTE IMPROVVISA DEL LATTANTE</p>	<p>Revisione 00</p> <p>27 marzo 2013</p> <p>Pagina 6 di 8</p>
--	--	---

è proponibile estendere il margine temporale di identificazione dei controlli ai nati in data anteriore/posteriore più prossima a quella del caso indice);

- compilare le schede per la raccolta dei dati anamnestici dei casi “controllo” (vedi Allegato 5), acquisendo le informazioni utili con le stesse modalità descritte al punto precedente, ed inviarle all’U.O. di Anatomia Patologica di Rovereto entro il termine massimo di una settimana dall’evento.

Al fine di semplificare la raccolta dati, la scelta dei controlli dovrebbe ricadere, nei limiti del possibile, su neonati ancora non dimessi dal punto nascita. Nel caso in cui il controllo individuato risultasse già dimesso dall’U.O. di Ostetricia e Ginecologia, la compilazione della scheda clinico-anamnestica potrà essere completata anche conducendo un’intervista telefonica ad entrambi i genitori.

7.2 LATTANTI DECEDUTI IMPROVVISAMENTE ENTRO UN ANNO DI VITA SENZA CAUSA APPARENTE

A) ADEMPIMENTI FINALIZZATI ALLO STUDIO ANATOMO-PATOLOGICO

- Qualora si verifichi il decesso senza causa apparente di un lattante entro il primo anno di vita, lo specialista ospedaliero che ne constata il decesso (qualora il paziente arrivi in Ospedale) o il medico necroscopo territoriale (qualora la constatazione di morte avvenga al domicilio) deve richiedere l’effettuazione del riscontro diagnostico, previa acquisizione del consenso di entrambi i genitori aventi diritto (vedi Allegato 1).

Se il decesso e la relativa constatazione avvengono in Ospedale, la richiesta di riscontro diagnostico, debitamente ed esaurientemente compilata, deve essere trasmessa alla propria Direzione di Struttura Ospedaliera, la quale, a sua volta, la fa pervenire all’U.O. di Anatomia Patologica dell’Ospedale di Rovereto; se il decesso e la relativa constatazione avvengono al domicilio, la richiesta di riscontro diagnostico deve essere trasmessa direttamente alla U.O. di Anatomia Patologica di Rovereto. Tale Servizio diagnostico è, infatti, la struttura incaricata a livello aziendale della effettuazione di tali tipologie di indagini e della successiva compilazione della scheda di cui all’Allegato 3.

- La salma del piccolo paziente deve essere inviata il prima possibile all’U.O. di Anatomia Patologica di Rovereto, secondo le modalità già in essere.

In attesa del trasporto dalla Morgue all’Anatomia Patologica di Rovereto, la salma deve essere mantenuta in luogo fresco, a temperatura non superiore a 4 C°.

B) ADEMPIMENTI FINALIZZATI ALLO STUDIO EPIDEMIOLOGICO

- I medici dell’U.O. di Anatomia Patologica dell’Ospedale di Rovereto, con la collaborazione degli operatori sanitari a vario titolo coinvolti nel caso (specialisti ospedalieri, personale del 118 Trentino Emergenza, Pediatri di Libera Scelta, medico necroscopo territoriale, ecc.) devono provvedere a:

- compilare le specifiche schede per la raccolta dei dati anamnestici inerenti il caso (vedi Allegato 6), acquisendo le informazioni necessarie dal Certificato di Assistenza al Parto (Cedap), dall’eventuale documentazione sanitaria, tramite colloquio con i genitori, ecc., entro massimo 2 giorni;
- chiedere all’U.O. di Ostetricia e Ginecologia ove è nato il lattante deceduto di selezionare due “controlli” dello stesso genere (es: maschio vs. maschio) e nazionalità (es: italiano vs. italiano; straniero vs. straniero) del caso indice, individuandoli fra i nati 7 giorni prima e 7 giorni dopo la data di nascita del lattante morto inaspettatamente;
- compilare le schede per la raccolta dei dati anamnestici dei casi “controllo” (vedi Allegato 5), acquisendo le informazioni utili con le stesse modalità previste per il caso indice, entro il termine massimo di una settimana dall’evento.

<p>Azienda Provinciale</p>  <p>per i Servizi Sanitari</p>	<p>AREA SISTEMI DI GOVERNANCE</p> <p>PROCEDURA AZIENDALE PER LA SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA MORTE INASPETTATA PERINATALE E DELLA SINDROME DELLA MORTE IMPROVVISA DEL LATTANTE</p>	<p>Revisione 00</p> <p>27 marzo 2013</p> <p>Pagina 7 di 8</p>
--	--	---

8 RIFERIMENTI

RIFERIMENTI NORMATIVI

- Legge del 2 febbraio 2006, n. 31 *“Disciplina del riscontro diagnostico sulle vittime della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) e di morte inaspettata di feto”*
- Delibera della Giunta Provinciale del 23 marzo 2012, n. 603 *“Approvazione dello schema di Convenzione tra la Provincia Autonoma di Trento e il “Centro di Ricerca Lino Rossi per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale (del feto a termine – stillbirth – e neonatale) e della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS)” dell’Università degli Studi di Milano”*
- D.P.R. del 10 settembre 1990, n. 285 *“Approvazione del regolamento di polizia mortuaria”*

9 ELENCO DEI DESTINATARI

PER INTERESSE PRIMARIO DI ATTIVITÀ:

- Personale medico delle UU.OO. di Anatomia-Patologica, delle UU.OO. di Ostetricia e Ginecologia, dell’U.O. di Neonatologia, delle UU.OO. di Pediatria, delle UU.OO. di Pronto Soccorso, di Trentino Emergenza 118, , delle UU.OO. di Igiene e Sanità Pubblica, Pediatri di Libera Scelta.
- Personale professioni sanitarie delle UU.OO. di Anatomia-Patologica, delle UU.OO. di Ostetricia e Ginecologia, dell’U.O. di Neonatologia, delle UU.OO. di Pediatria, delle UU.OO. Pronto Soccorso, di Trentino Emergenza 118.

PER RUOLO NELLA PROCEDURA

- Direzioni di Struttura Ospedaliera
- Direzioni di Distretti
- Direzione del Dipartimento di Prevenzione
- Servizio Ospedaliero Provinciale

PER CONOSCENZA

- Direzione Generale
- Direzione Sanitaria
- Direzione Amministrativa
- Direzione per l’Integrazione Socio-Sanitaria
- Area Sistemi di Governance
- Servizio Comunicazione interna ed esterna

10 DOCUMENTI ALLEGATI

- Allegato 1: Richiesta di riscontro diagnostico e Consenso Informato al riscontro diagnostico e all’esecuzione di analisi genetiche e tossicologiche
- Allegato 2: Scheda per il referto macroscopico degli annessi fetali
- Allegato 3: Scheda per il riscontro diagnostico
- Allegato 4: Schede per la raccolta dei dati anamnestici – Schede “Morte Perinatale”: Fetale (dopo la 25^a settimana di gestazione) – Neonatale (entro la prima settimana di vita)

<p>Azienda Provinciale</p>  <p>per i Servizi Sanitari</p>	<p>AREA SISTEMI DI GOVERNANCE</p> <p>PROCEDURA AZIENDALE PER LA SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA MORTE INASPETTATA PERINATALE E DELLA SINDROME DELLA MORTE IMPROVVISA DEL LATTANTE</p>	<p>Revisione 00</p> <p>27 marzo 2013</p> <p>Pagina 8 di 8</p>
--	--	---

- Allegato 5: Schede per la raccolta dei dati anamnestici dei casi “controllo”
- Allegato 6: Schede per la raccolta dei dati anamnestici – Schede della “Sindrome della Morte Improvvisa del Lattante” (SIDS)
- Allegato 7: Documento Guida “Sorveglianza epidemiologica della natimortalità (e morte perinatale) e della SIDS, come previsto dalla convenzione tra Provincia Autonoma di Trento e Centro di Ricerca Lino Rossi per lo studio e la prevenzione della morte fetale/perinatale e della morte improvvisa del lattante”

Allegato 1

AZIENDA PROVINCIALE PER I SERVIZI SANITARI
Provincia Autonoma di Trento
Ospedale "S.Maria del Carmine"
Rovereto

UNITA' OPERATIVA DI ANATOMIA ED
ISTOLOGIA PATOLOGICA E CITODIAGNOSTICA

TIMBRI - AUTORIZZAZIONI - INTESTAZIONI

RICHIESTA DI RISCONTRO DIAGNOSTICO AUTOPSIA

D.P.R. DEL 10.09.1990 n. 285 art. 37¹

NORMALE
(24 h dal decesso)

ANTICIPATA

COGNOME		NOME
DATA DI NASCITA	SESSO	COMUNE DI RESIDENZA
DATA DI MORTE	ORA	
DECEDUTO PRESSO (struttura sanitaria o altra sede)		
MEDICO CURANTE (che constata il decesso)		

NOTIZIE CLINICO ANAMNESTICHE E CAUSA DELLA MORTE

QUESITI SPECIFICI PER L'ANATOMO PATOLOGO

Data della richiesta

IL MEDICO RICHIEDENTE (firma leggibile)

¹art.37 - Fatti salvi i poteri dell'autorità giudiziaria sono sottoposte al riscontro diagnostico, secondo le norme della legge 15.02.61, n.83, i cadaveri delle persone decedute senza assistenza medica, trasportati ad un ospedale o ad un deposito di osservazione o ad un obitorio, nonchè i cadaveri delle persone decedute negli ospedali, nelle cliniche universitarie e negli istituti di cura privati quanto i rispettivi direttori, primari o medici curanti lo dispongano per il controllo della diagnosi o per il chiarimento di quesiti clinico-scientifici.

ORIGINALE PER U.O. ANATOMIA PATOLOGICA

Allegato 1

CONSENSO INFORMATO AL RISCONTRO DIAGNOSTICO

Io sottoscritta (madre).....

nata a (Prov.) il

residente a(Prov.) CAP

in via n° Tel

e

Io sottoscritto (padre).....

nato a (Prov.) il

residente a(Prov.) CAP

in via n° Tel

esprimiamo il consenso all'effettuazione del riscontro diagnostico, a condizione che i risultati vengano trattati in forma anonima.

Data

Firma Madre.....

Firma Padre.....

Allegato 1

CONSENSO INFORMATO ALL'ESECUZIONE DI ANALISI GENETICHE

Le analisi genetiche su materiale biologico umano sono condotte al fine di individuare alterazioni del patrimonio genetico che possono causare o predisporre allo sviluppo di patologie. Tutti i risultati ottenuti da tali analisi sono strettamente riservati e sottoposti al vincolo del segreto professionale. Ogni tipo di materiale biologico prelevato è conservato in modo anonimo ai sensi della legge sulla privacy (d.leg. 30/6/03 n.196) e la possibilità di risalire ai dati identificativi è riservata solo al personale autorizzato.

Io sottoscritta (Madre)
nata a (Prov.) il
residente a(Prov.) CAP
in via n° Tel
e

Io sottoscritto (Padre)
nato a (Prov.) il
residente a(Prov.) CAP
in via n° Tel

esprimiamo il consenso al prelievo di materiale biologico per l'esecuzione di analisi genetiche a condizione che il DNA o altro materiale estratto venga usato, in forma anonima, con garanzia della massima riservatezza, per ricerche scientifiche.

Data

Firma Madre.....

Firma Padre.....

Allegato 1

CONSENSO INFORMATO ALL'ESECUZIONE DI ANALISI TOSSICOLOGICHE

Le analisi tossicologiche su materiale biologico umano sono condotte al fine di individuare la presenza di sostanze esogene che possono causare o predisporre allo sviluppo di patologie. Tutti i risultati ottenuti da tali analisi sono strettamente riservati e sottoposti al vincolo del segreto professionale. Ogni tipo di materiale biologico prelevato è conservato in modo anonimo ai sensi della legge sulla privacy (d.leg. 30/6/03 n.196) e la possibilità di risalire ai dati identificativi è riservata solo al personale autorizzato.

Io sottoscritta (Madre)
nata a (Prov.) il
residente a(Prov.) CAP
in via n° Tel

e

Io sottoscritto (Padre)
nato a (Prov.) il
residente a(Prov.) CAP
in via n° Tel

esprimiamo il consenso al prelievo di materiale biologico per l'esecuzione di analisi tossicologiche e che tale materiale venga usato, in forma anonima, con garanzia della massima riservatezza, per ricerche scientifiche.

Data

Firma Madre.....

Firma Padre.....

Allegato 2

SCHEDA PER IL REFERTO MACROSCOPICO DEGLI ANNESSI FETALI

PLACENTA: singola Gemellare fusa Gemellare separata

PERVENUTA: fresca Fissata Refrigerata Congelata

Intera Frammentata
 Parziale Cotiledoni lacerati Lembi di decidua basale adesi

MEMBRANE

Punto di rottura: precisabile imprecisabile

Distanza dal margine del disco coriale cm:.....

Inserzione: normale marginale
 extracoriale (circumvallata - circummarginata)

Caratteristiche: ispessite sottili opache
 lucenti colorazione di meconio edema
 emorragia retromembranosa

CORDONE OMBELICALE

Lunghezza cm
diametro massimo cm..... diametro minimo cm.....
Inserzione: centrale marginale eccentrica
 velamentosa

Distanza dal margine materno-fetale cm.:.....
 nodi veri nodi falsi torsione
 restringimenti iperspiralizzazione
 aneurismi ematomi trombosi

Allegato 2

DISCO CORIALE

Peso g..... Diametri cm..... x cm.....

Spessore massimo cm..... Spessore minimo cm.....

Forma: rotonda ovale a cuore a rene
 a racchetta bilobata trilobata doppia tripla
 multipla membranosa fenestrata anulare
 lobi accessori lobi aberranti

Versante fetale:

lucente opaco metaplasia squamosa
 amnios nodosum fibrina subcorionica ematomi subcorionici
 ematomi subamniotici

Versante materno:

cotiledoni prominenti cavitazioni centrali aree depresse
 lacerazioni fibrina perivillosa sclerosi marginale
 calcificazioni

Ematomi: retroplacentari n° - Ø mass cm
 marginali n°- Ø mass cm
 intervillosi n°- Ø mass cm

Infarti: recenti n°- Ø mass cm
 di vecchia data n°- Ø mass cm

Vasi coriali

Distribuzione dei vasi: Magistrale Dispersa
 Anastomosi vascolari Angiodistopie

Allegato 3

SCHEDA PER IL RISCONTRO DIAGNOSTICO

(Allegare copia del referto)

Peso al decesso (gr) _____

Lunghezza cranio-podalica (cm) _____

Circonferenza cranica (cm) _____

Circonferenza toracica (cm) _____

Intervallo di tempo tra morte e prelievo di tessuto fresco (corteccia cerebrale) per l'esame genetico* _____

Organi	Peso (gr)	Osservazioni
Placenta		
Cuore		
Encefalo		
Fegato		
Milza		
Polmone destro		
Polmone sinistro		
Rene destro		
Rene sinistro		
Surrene destro		
Surrene sinistro		
Timo		

**Informazione indispensabile per una valutazione adeguata degli acidi nucleici*

Data di compilazione ____ / ____ / ____

Nome del compilatore _____

Allegato 4

SCHEDA PER LA RACCOLTA DEI DATI ANAMNESTICI

**SCHEDA "MORTE PERINATALE": FETALE (dopo la 25^a settimana di gestazione)-
NEONATALE (entro la prima settimana di vita)**

ANAGRAFICA MADRE

CognomeNome

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../..... Età.....

Indirizzo: via.....N°CAP.....

ComuneProvincia

- Etnia:

- Caucasica Ispanica Medio Orientale
- Indiana (subcontinentale) Asiatica Nera
- Meticcia Magrebina Altra Dato mancante

- Professione.....

- Precedenti concepimenti Si No Dato mancante

Numero parti precedenti.....

N° nati vivi.....

N° feti morti (>25^a settimana- Legge n°31/2006).....

N° aborti spontanei.....Settimane per aborto.....

N° di IVG (interruzione volontaria di gravidanza).....

Data ultimo parto precedente: (gg/mm/aaaa)/...../.....

Allegato 4

FUMO	ATTIVO			PASSIVO			
	NO	SI	Sigarette n/die	A CASA		AL LAVORO	
				NO	SI	NO	SI
prima del concepimento		dall'età di anni _____			dall'età di anni _____		dall'età di anni _____
durante la gravidanza		fino alla sett.gest. _____			fino alla sett. gest _____		fino alla sett.gest. _____
dopo il parto		fino all'età del bambino di giorni _____			fino all'età del bambino di giorni _____		fino all'età del bambino di giorni _____

- La madre abusa di alcool? Si No Dato mancante
- La madre abusa di sostanze stupefacenti?
 Si (specificare.....) No
 Dato mancante
- La madre abusa di sedativi e/o farmaci?
 Si (specificare.....) No
 Dato mancante
- La madre è risultata positiva al virus dell'HIV? Si No Dato mancante

INFORMAZIONI SULLA GRAVIDANZA

Data ultima mestruazione (gg/mm/aaaa)/...../.....

Data presunta del parto anamnestico (gg/mm/aaaa)/...../.....

Data presunta del parto ecografico (gg/mm/aaaa)/...../.....

N° visite di controllo in gravidanza

PATOLOGIE GESTANTE

Malattia ipertensiva Si (gestazionale /pregestazionale) No Dato mancante

Diabete Si (gestazionale /pregestazionale) No Dato mancante

Alterazioni dell'emoglobina Si No Dato mancante



Talassemia Metemoglobinemia Altro

Alterazioni della coagulazione Si No Dato mancante

Malattie autoimmuni Si No Dato mancante

Allegato 4

INFEZIONI MATERNE PRECONCEZIONALE PERI-POSTCONCEZIONALE

- | | |
|--------------------------------|--------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> HIV | <input type="checkbox"/> HBV |
| <input type="checkbox"/> HCV | <input type="checkbox"/> LUE |
| <input type="checkbox"/> TOXO | <input type="checkbox"/> CMV |
| <input type="checkbox"/> RUBEO | <input type="checkbox"/> altro |

ALTRE PATOLOGIE DELLA GESTANTE

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> disturbi tiroide | <input type="checkbox"/> cardiopatia |
| <input type="checkbox"/> patologie renali | <input type="checkbox"/> colestasi gravidica |
| <input type="checkbox"/> parodontopatie | <input type="checkbox"/> altro |

TEST DI SCREENING PER CROMOSOPATIE

- | | | | |
|-------------|-------------------------------------|---|--|
| Screening | <input type="checkbox"/> Si | <input type="checkbox"/> No | <input type="checkbox"/> Dato mancante |
| NT | <input type="checkbox"/> patologico | <input type="checkbox"/> non patologico | <input type="checkbox"/> dato mancante |
| NT+BI TEST | <input type="checkbox"/> patologico | <input type="checkbox"/> non patologico | <input type="checkbox"/> dato mancante |
| Triplo test | <input type="checkbox"/> patologico | <input type="checkbox"/> non patologico | <input type="checkbox"/> dato mancante |

↓

- | | | |
|----------------------------------|------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> S. Down | <input type="checkbox"/> DTN | <input type="checkbox"/> dato mancante |
|----------------------------------|------------------------------|--|

INDAGINI PRENATALI INVASIVE

- | | | | |
|----------------------|---|---|--|
| Biopsia villocoriale | <input type="checkbox"/> normale | <input type="checkbox"/> non effettuata | <input type="checkbox"/> dato mancante |
| | <input type="checkbox"/> patologico, specificare..... | | |

- | | | | |
|--------------|---|---|--|
| Amniocentesi | <input type="checkbox"/> normale | <input type="checkbox"/> non effettuata | <input type="checkbox"/> dato mancante |
| | <input type="checkbox"/> patologico, specificare..... | | |

- | | | | |
|-----------------|---|---|--|
| Funicolocentesi | <input type="checkbox"/> normale | <input type="checkbox"/> non effettuata | <input type="checkbox"/> dato mancante |
| | <input type="checkbox"/> patologico, specificare..... | | |

- | | | | |
|------------|---|---|--|
| Fetoscopia | <input type="checkbox"/> normale | <input type="checkbox"/> non effettuata | <input type="checkbox"/> dato mancante |
| | <input type="checkbox"/> patologico, specificare..... | | |

Allegato 4

ANAGRAFICA PADRE

CognomeNome

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../..... Et .....

Indirizzo: via.....N .....CAP.....

ComuneProvincia

- Etnia:

- Caucasica
- Ispanica
- Medio Orientale
- Indiana (subcontinentale)
- Asiatica
- Nera
- Meticcia
- Magrebina
- Altra
- Dato mancante

- Professione.....

- Il padre fuma? No Si (specificare n.sigarette/die.....)
 Dato mancante

- Il padre abusa di sostanze stupefacenti?
 Si (specificare.....) No
 Dato mancante

- Il padre abusa di sedativi e/o farmaci?
 Si (specificare.....) No
 Dato mancante

- Il padre   risultato positivo al virus dell'HIV? Si No Dato mancante

Allegato 4

SCHEDA FETO

Cognome Nome

Indirizzo: via.....N°.....CAP.....

Comune..... (Provincia).....

Sesso: Maschio
 Femmina

Data della morte (gg/mm/aaaa)/...../.....

Età (settimana gestazione)

Data ultimo controllo (gg/mm/aaaa)/...../.....

Liquido amniotico normale patologico, specificare.....
 dato mancante

RX scheletro No Sì, specificare.....
 dato mancante

Il riscontro diagnostico è stato effettuato?

Sì No Dato mancante



presso quale sede?.....

I prelievi sono stati eseguiti secondo il protocollo nazionale?

Sì No Dato mancante

Data del riscontro diagnostico (gg/mm/aaaa)...../...../.....

Medico che ha effettuato il riscontro diagnostico

Allegato 4

SCHEDA NEONATO

Cognome Nome

Indirizzo: via.....N°.....CAP.....

Comune..... (Provincia).....

Sesso: Maschio
 Femmina

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../.....

Età postconcezionale (età gestazionale + età postnatale.....)

Data di morte (gg/mm/aaaa)...../...../.....

Il riscontro diagnostico è stato effettuato?

Sì No Dato mancante

↓

presso quale sede?.....

I prelievi sono stati eseguiti secondo il protocollo nazionale?

Sì No Dato mancante

Data del riscontro diagnostico (gg/mm/aaaa)...../...../.....

Medico che ha effettuato il riscontro diagnostico

Persona che ha effettuato la raccolta dei dati anamnestici

Nome e Cognome

Qualifica.....

Data.....

Allegato 5

SCHEDE PER LA RACCOLTA DEI DATI ANAMNESTICI DEI CASI "CONTROLLO"

• SCHEDE "CONTROLLO PERINATALE" (ENTRO LA PRIMA SETTIMANA DI VITA)

ANAGRAFICA MADRE

CognomeNome

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../..... Età.....

Indirizzo: via.....N°.....CAP.....

ComuneProvincia

• Etnia:

- Caucasica Ispanica Medio Orientale
 Indiana (subcontinentale) Asiatica Nera
 Meticcia Magrebina Altra Dato mancante

• Professione.....

• Precedenti concepimenti Si No Dato mancante

Numero parti precedenti.....

N° nati vivi.....

N° feti morti (>25^a settimana- Legge n°31/2006).....

N° aborti spontanei.....Settimane per aborto.....

N° di IVG (interruzione volontaria di gravidanza).....

Data ultimo parto precedente: (gg/mm/aaaa)/...../.....

Allegato 5

FUMO	ATTIVO			PASSIVO			
	NO	SI	Sigarette n/die	A CASA		AL LAVORO	
				NO	SI	NO	SI
prima del concepimento		dall'età di anni _____			dall'età di anni _____		dall'età di anni _____
durante la gravidanza		fino alla sett.gest. ____			fino alla sett. gest ____		fino alla sett.gest. ____
dopo il parto		fino all'età del bambino di giorni ____			fino all'età del bambino di giorni ____		fino all'età del bambino di giorni ____

- La madre abusa di alcool? Si No Dato mancante
- La madre abusa di sostanze stupefacenti?
 - Si (specificare.....) No
 - Dato mancante
- La madre abusa di sedativi e/o farmaci?
 - Si (specificare.....) No
 - Dato mancante
- La madre è risultata positiva al virus dell'HIV? Si No Dato mancante

INFORMAZIONI SULLA GRAVIDANZA

Data ultima mestruazione (gg/mm/aaaa)/...../.....

Data presunta del parto anamnestico (gg/mm/aaaa)/...../.....

Data presunta del parto ecografico (gg/mm/aaaa)/...../.....

N° visite di controllo in gravidanza

PATOLOGIE

Malattia ipertensiva Si (gestazionale /pregestazionale) No Dato mancante

Diabete Si (gestazionale /pregestazionale) No Dato mancante

Alterazioni dell'emoglobina Si No Dato mancante



Talassemia Metemoglobinemia Altro

Alterazioni della coagulazione Si No Dato mancante

Malattie autoimmuni Si No Dato mancante

Allegato 5

INFEZIONI MATERNE PRECONCEZIONALE PERI-POSTCONCEZIONALE

- HIV HBV
 HCV LUE
 TOXO CMV
 RUBEO altro

ALTRE PATOLOGIE

- disturbi tiroide cardiopatia
 patologie renali colestasi gravidica
 parodontopatie altro

TEST DI SCREENING PER CROMOSOPATIE

- Screening Si No Dato mancante
NT patologico non patologico dato mancante
NT+BI TEST patologico non patologico dato mancante
Triplo test patologico non patologico dato mancante
↓
 S. Down DTN dato mancante

INDAGINI PRENATALI INVASIVE

- Biopsia villocoriale normale non effettuata dato mancante
 patologico, specificare.....
- Amniocentesi normale non effettuata dato mancante
 patologico, specificare.....
- Funicolocentesi normale non effettuata dato mancante
 patologico, specificare.....
- Fetoscopia normale non effettuata dato mancante
 patologico, specificare.....

Allegato 5

ANAGRAFICA PADRE

CognomeNome

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../..... Età.....

Indirizzo: via.....N°.....CAP.....

ComuneProvincia

- Etnia:

- Caucasica Ispanica Medio Orientale
- Indiana (subcontinentale) Asiatica Nera
- Meticcia Magrebina Altra Dato mancante

- Professione.....

- Il padre fuma? No Si (specificare n.sigarette/die.....)
 Dato mancante

- Il padre abusa di sostanze stupefacenti?
 Si (specificare.....) No
 Dato mancante

- Il padre abusa di sedativi e/o farmaci?
 Si (specificare.....) No
 Dato mancante

- Il padre è risultato positivo al virus dell'HIV? Si No Dato mancante

Allegato 5

ANAGRAFICA NEONATO "CONTROLLO"

Cognome Nome

Indirizzo: via.....N°.....CAP.....

Comune..... (Provincia).....

Sede di nascita.....

Sesso: Maschio
 Femmina

Data di nascita (gg/mm/aaaa)/...../.....

Età

Età postconcezionale(età gestazionale + età postnatale.....)

Liquido amniotico normale patologico, specificare.....
 dato mancante

RX scheletro No Si, specificare.....
 dato mancante

Allegato 5

• SCHEDE "CONTROLLO LATTANTE" (dopo la prima settimana di vita)

ANAGRAFICA MADRE

CognomeNome

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../..... Età.....

Indirizzo: via.....N°.....CAP.....

ComuneProvincia

• Etnia:

- Caucasica Ispanica Medio Orientale
 Indiana (subcontinentale) Asiatica Nera
 Meticcia Magrebina Altra Dato mancante

• Professione.....

• Precedenti concepimenti Si No Dato mancante

Numero parti precedenti.....

N° nati vivi.....

N° feti morti (>25^a settimana- Legge n°31/2006).....

N° aborti spontanei.....Settimane per aborto.....

N° di IVG (interruzione volontaria di gravidanza).....

Data ultimo parto precedente: (gg/mm/aaaa)/...../.....

FUMO	ATTIVO			PASSIVO			
	NO	SI	Sigarette n/die	A CASA		AL LAVORO	
				NO	SI	NO	SI
prima del concepimento		dall'età di anni_____			dall'età di anni_____		dall'età di anni_____
durante la gravidanza		fino alla sett.gest.____			fino alla sett. gest____		fino alla sett.gest.____
dopo il parto		fino all'età del bambino di giorni____			fino all'età del bambino di giorni____		fino all'età del bambino di giorni____

• La madre abusa di alcool? Si No Dato mancante

Allegato 5

- La madre abusa di sostanze stupefacenti?
 Sì (specificare.....) No
 Dato mancante
- La madre abusa di sedativi e/o farmaci?
 Sì (specificare.....) No
 Dato mancante
- La madre è risultata positiva al virus dell'HIV? Sì No Dato mancante

PATOLOGIE

Malattia ipertensiva Sì No Dato mancante

Diabete Sì No Dato mancante

Alterazioni dell'emoglobina Sì No Dato mancante



Talassemia Metemoglobinemia Altro

Alterazioni della coagulazione Sì No Dato mancante

Malattie autoimmuni Sì No Dato mancante

INFEZIONI MATERNE PRECONCEZIONALE PERI-POSTCONCEZIONALE

- HIV HBV
 HCV LUE
 TOXO CMV
 RUBEO altro

ALTRE PATOLOGIE

- disturbi tiroide cardiopatia
 patologie renali colestasi gravidica
 parodontopatie altro

FRATELLI (del lattante morto)

	VIVO NATO IL	MORTO ALL'ETA' DI		CAUSA*
		MESI	ANNI	
1				
2				
3				

*specificare se morto per SIDS

Allegato 5

ANAGRAFICA PADRE

CognomeNome

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../..... Età.....

Indirizzo: via.....N°.....CAP.....

ComuneProvincia

- Etnia:

- Caucasica Ispanica Medio Orientale
- Indiana (subcontinentale) Asiatica Nera
- Meticcia Magrebina Altra Dato mancante

- Professione.....

- Il padre fuma? No Si (specificare n.sigarette/die.....)
 Dato mancante

- Il padre abusa di sostanze stupefacenti?
 Si (specificare.....) No
 Dato mancante

- Il padre abusa di sedativi e/o farmaci?
 Si (specificare.....) No
 Dato mancante

- Il padre è risultato positivo al virus dell'HIV? Si No Dato mancante

Allegato 5

ANAGRAFICA LATTANTE "CONTROLLO"

Cognome

Nome

Indirizzo: via.....N°CAP.....

Comune..... (Provincia).....

Sede di nascita.....

Sesso: Maschio

Femmina

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../.....

Età

Età postconcezionale..... (età gestazionale + età postnatale.....)

Tipo di allattamento

materno, fino all'età di.....

formula, dall'età di

misto, dall'età di

svezzato, dall'età di

dato mancante

Come dorme di solito?

supino

prono

sul fianco

dato mancante

Con il succhiotto?

Sì

No

dato mancante

Data ultimo controllo pediatra (gg/mm/aaaa)...../...../.....

Allegato 5

Patologie in atto:

- No
 Si (specificare):

- Raffreddore
 Tosse
 Febbre
 Diarrea
 Vomito/rigurgito
 Esantema/eczema
 Altro

Ha eseguito vaccinazioni nell'ultimo mese?

- No Si (specificare.....)
 Dato mancante

Persona che ha effettuato la raccolta dei dati anamnestici

Nome e Cognome

Qualifica.....

Data.....

Allegato 6

SCHEDE PER LA RACCOLTA DEI DATI ANAMNESTICI

SCHEDE "SINDROME DELLA MORTE IMPROVVISA DEL LATTANTE" (SIDS)

ANAGRAFICA MADRE

CognomeNome

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../..... Età.....

Indirizzo: via.....N°CAP.....

ComuneProvincia

- Etnia:

- Caucasica Ispanica Medio Orientale
 Indiana (subcontinentale) Asiatica Nera
 Meticcia Magrebina Altra Dato mancante

- Professione.....

- Precedenti concepimenti Si No Dato mancante

Numero parti precedenti.....

N° nati vivi.....

N° feti morti (>25^a settimana- Legge n°31/2006).....

N° aborti spontanei.....Settimane per aborto.....

N° di IVG (interruzione volontaria di gravidanza).....

Data ultimo parto precedente: (gg/mm/aaaa)/...../.....

FUMO	ATTIVO			PASSIVO			
	NO	SI	Sigarette n/die	A CASA		AL LAVORO	
				NO	SI	NO	SI
prima del concepimento		dall'età di anni _____			dall'età di anni _____		dall'età di anni _____
durante la gravidanza		fino alla sett.gest. _____			fino alla sett. gest _____		fino alla sett.gest. _____
dopo il parto		fino all'età del bambino di giorni _____			fino all'età del bambino di giorni _____		fino all'età del bambino di giorni _____

Allegato 6

- La madre abusa di alcool? Si No Dato mancante
- La madre abusa di sostanze stupefacenti?
 - Si (specificare.....) No
 - Dato mancante
- La madre abusa di sedativi e/o farmaci?
 - Si (specificare.....) No
 - Dato mancante
- La madre è risultata positiva al virus dell'HIV? Si No Dato mancante

PATOLOGIE

Malattia ipertensiva Si No Dato mancante

Diabete Si No Dato mancante

Alterazioni dell'emoglobina Si No Dato mancante



Talassemia Metemoglobinemia Altro

Alterazioni della coagulazione Si No Dato mancante

Malattie autoimmuni Si No Dato mancante

INFEZIONI MATERNE PRECONCEZIONALE PERI-POSTCONCEZIONALE

- HIV HBV
- HCV LUE
- TOXO CMV
- RUBEO altro

ALTRE PATOLOGIE

- disturbi tiroide cardiopatia
- patologie renali colestasi gravidica
- parodontopatie altro

FRATELLI (del lattante morto)

	VIVO NATO IL	MORTO ALL'ETA' DI		CAUSA*
		MESI	ANNI	
1				
2				
3				

*specificare se morto per SIDS

Allegato 6

ANAGRAFICA PADRE

CognomeNome

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../..... Et .....

Indirizzo: via.....N .....CAP.....

ComuneProvincia

- Etnia:

- Caucasica Ispanica Medio Orientale
- Indiana (subcontinentale) Asiatica Nera
- Meticcia Magrebina Altra Dato mancante

- Professione.....

- Il padre fuma? No Si (specificare n.sigarette/die.....)
 Dato mancante

- Il padre abusa di sostanze stupefacenti?
 Si (specificare.....) No
 Dato mancante

- Il padre abusa di sedativi e/o farmaci?
 Si (specificare.....) No
 Dato mancante

- Il padre   risultato positivo al virus dell'HIV? Si No Dato mancante

Allegato 6

SCHEDA SIDS

Cognome Nome

Indirizzo: via.....N°.....CAP.....

Comune..... (Provincia).....

Sesso: Maschio
 Femmina

Data di nascita (gg/mm/aaaa)...../...../.....

Età postconcezionale..... (età gestazionale + età postnatale.....)

Data di morte (gg/mm/aaaa)...../...../.....

Ora del decesso, se conosciuta (hh:mm).....

Ora del rilievo del decesso (hh:mm).....

Ora dell'ultimo controllo parentale (hh:mm).....

Tipo di allattamento

- materno, fino all'età di.....
- formula, dall'età di
- misto, dall'età di
- svezzato, dall'età di
- dato mancante

Come dormiva di solito?

- supino
- prono
- sul fianco
- dato mancante

Con il succhiotto?

- Sì
- No
- dato mancante

Data ultimo controllo pediatra (gg/mm/aaaa)...../...../.....

Allegato 6

Patologie in atto:

No

Si (specificare):

Raffreddore

Tosse

Febbre

Diarrea

Vomito/rigurgito

Esantema/eczema

Altro

Ha manifestato disturbi respiratori?

No

Si (specificare):

Apnee notturne

Altro

Ha eseguito vaccinazioni nell'ultimo mese?

No Si (specificare.....)

Dato mancante

Il riscontro diagnostico è stato effettuato?

Si No Dato mancante

↓

presso quale sede?.....

I prelievi sono stati eseguiti secondo il protocollo nazionale?

Si No Dato mancante

Data del riscontro diagnostico (gg/mm/aaaa)...../...../.....

Medico che ha effettuato il riscontro diagnostico

Allegato 6

SCENA DEL RITROVAMENTO

nome del bambino

trovato morto il..... ora.....

Luogo di morte

IN OSPEDALE

Nome.....

IN CASA

in culla/lettino

in camera coi genitori in camera separata

in altro luogo dell'abitazione, specificare

a letto con i genitori

a letto con altre persone specificare

nel seggiolone in braccio

nel passeggino nell'infant-seat

temperatura nella stanza del ritrovamento°C circa

temperatura del bambino °C

FUORI CASA

nel passeggino nel seggiolino in automobile in braccio

abitazione altrui altro, specificare

SE SDRAIATO, la posizione era: supina prona sul fianco

in altra posizione, specificare

tipo di abbigliamento indossato

Allegato 6

cuscino No Si

succhiotto in bocca No Si

catenine o nastri al collo No Si

consistenza del materasso

oggetti/giocattoli nel lettino No Si

materiale organico

in bocca No Si, specificare

nel naso No Si, specificare

nel pannolino No Si, specificare

tentativi di rianimazione No Si

Aspetto del bambino quando è stato ritrovato morto

decolorazione attorno al volto/bocca sudato

secrezioni (schiuma, bava) flaccido

decolorazione cutanea (livor mortis) caldo

segni da pressione (aree pallide, decolorazioni) freddo

rash o petecchie (piccole, macchie rosse su cute, membrane, o occhi)

rigido impronte sul corpo (graffi o lividi) non valutato

altro

In quale giorno e a quale ora è stato somministrato l'ultimo pasto?

Giorno/...../.....

Ora:.....

Persona che ha somministrato l'ultimo pasto

.....

Allegato 6

Quali cibi e liquidi sono stati somministrati al bambino nelle ultime 24 ore (incluso l'ultimo pasto) e in quale quantità?

- latte materno ml
- latte in polvere gr
- latte di mucca ml
- acqua ml
- altri liquidi (thè, succo) ml
- cibi omogeneizzati o solidi gr
- altro gr /ml

C'è stato un nuovo alimento somministrato al bambino nelle ultime 24 ore?

- No
- Sì, specificare (es. passaggio a latte artificiale, svezzamento).....

chi ha rilevato la morte?

- medico
- madre
- padre
- altri, specificare.....

Persona che ha effettuato la raccolta dei dati anamnestici

Nome e Cognome

Qualifica.....

Data.....

Documento Guida

Sorveglianza epidemiologica della
natimortalità (e morte perinatale) e della SIDS,
come previsto dalla convenzione tra
Provincia autonoma di Trento e
Centro di Ricerca Lino Rossi
per lo studio e la prevenzione della morte
fetale/perinatale e della morte improvvisa del lattante.

Indice

▪ Proposta operativa ed elementi di contesto	Pag.	3
▪ Unità operative, servizi ed operatori coinvolti		5
▪ Epidemiologia della natimortalità e della morte neonatale in Provincia di Trento		6
▪ Nati morti senza cause apparenti		7
▪ Neonati deceduti nel primo anno di vita per SIDS		10
▪ Conservazione e trasporto dei prodotti abortivi, dei nati morti e dei neonati morti entro il primo anno di vita per SIDS		13
▪ Aspetti organizzativi generali		14
▪ Allegati		
○ Scheda anamnestica nato morto/decesso entro i primi 7 giorni		16
○ Scheda anamnestica decesso per SIDS		23
○ Scheda indagine domiciliare per SIDS		35
○ Scheda di rilevazione ambientale		37

Proposta operativa ed elementi di contesto

Il presente protocollo delinea i criteri di raccolta dati sulla natimortalità (e morte nella prima settimana di vita) e sulla sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS), ai sensi di quanto previsto dalla Legge 31 del 2 febbraio 2006 e della delibera della Giunta Provinciale n.603 del 23 marzo 2012.

L'Articolo 1 della legge 31/2006 prevede che "I lattanti deceduti improvvisamente entro un anno di vita senza causa apparente e i feti deceduti anch'essi senza causa apparente dopo la venticinquesima settimana di gestazione devono essere prontamente sottoposti con il consenso di entrambi i genitori a riscontro diagnostico da effettuarsi nei centri autorizzati secondo i criteri individuati nell'articolo 2, a cui sono inviati gli organi prelevati. Le informazioni relative alla gravidanza, allo sviluppo fetale e al parto e, nel caso di sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS), alle situazioni ambientali e familiari in cui si è verificato il decesso, raccolte con un'indagine familiare, devono essere accuratamente registrate e vagliate, per il completamento diagnostico e per finalità scientifiche, dall'ostetrico-ginecologo, dal neonatologo, dal pediatra curanti e dall'anatomo patologo sulla base dei protocolli internazionali".

Pertanto, la convenzione tra Centro di Ricerca Lino Rossi e PAT prevede le seguenti attività:

1. Studio anatomico-clinico: lo studio anatomico-patologico verrà eseguito esclusivamente dal Centro di Ricerca "Lino Rossi" dell'Università di Milano al quale verrà inviato il materiale autoptico secondo una procedura facilmente accessibile. Anche lo studio clinico verrà eseguito dal Centro di Ricerca "Lino Rossi" attraverso l'analisi del questionario che ginecologo/ostetrica/neonatologo/patologo (vedi "Dettaglio protocollo operativo"), in collaborazione con la madre, dovranno compilare ed accludere all'invio del materiale autoptico.
2. Studio di genetica e biologia molecolare: lo studio di genetica e biologia molecolare verrà eseguito sul materiale autoptico dal Centro di Ricerca "Lino Rossi" dell'Università di Milano.
3. Studio epidemiologico con l'ausilio della Banca Dati: l'epidemiologia delle morti improvvise del lattante e della morte inaspettata del feto è stata sino ad oggi eseguita a cura dell'Università Milano Bicocca che da anni collabora con il Centro di Ricerca "Lino Rossi" e dispone di una banca dati di tutti i casi esaminati ed è disponibile a collaborare con i nostri epidemiologi al fine di avviare e coordinare la sorveglianza epidemiologica dei fenomeni in studio e di formalizzare una banca dati dei casi della Provincia Autonoma di Trento.
4. Campagna di sensibilizzazione rivolta agli operatori sanitari e alle famiglie per informare e sensibilizzare sul come ridurre il rischio di morte fetale inaspettata e di SIDS.
5. Studio tossicologico dei fattori di rischio xenobiotici: dovrà essere eseguito esclusivamente dal ginecologo accertando se la madre era fumatrice oppure viveva in un ambiente con fumo passivo o abusava di sostanze stupefacenti o di sedativi e/o farmaci, attraverso la somministrazione, a tutte le partorienti, di questionari appositi.

La proposta presentata tiene conto nel loro complesso dei *seguenti elementi di contesto*:

1. *La natimortalità* è già oggetto di rilevamento routinario presso i punti nascita -, secondo quanto previsto dal DM 16 luglio 2001 n.349 (istituzione del flusso del Certificato di Assistenza al Parto-Cedap), sotto la responsabilità del medico (Ginecologo/Neonatologo/Pediatra); *in APSS il flusso informativo del Cedap e la*

Allegato 7

conseguente elaborazione dati sono gestiti dal Servizio Epidemiologia Clinica e Valutativa, con il supporto dei punti nascita e del Servizio Sistemi Informativi;

2. La rilevazione della *mortalità nel primo anno di vita* (o meglio delle cause di morte nel primo anno di vita), è disciplinata, così come la rilevazione della mortalità generale, dal Regolamento di Polizia mortuaria (DPR del 10 settembre 1990, n.285) ed è attuata attraverso la compilazione delle Schede ISTAT di morte D4/D5-bis; *in APSS il flusso informativo della mortalità e la conseguente elaborazione dati sono gestiti dal Servizio Epidemiologia Clinica e Valutativa, con il supporto dei medici certificatori e del Servizio Statistica della PAT.*
3. Le schede anamnestiche specifiche per la raccolta dati in epoca perinatale (nato morto e decesso entro la prima settimana di vita) e nel corso del primo anno di vita (dall'8° giorno di vita fino al 12° mese), in riferimento alla SIDS – proposte dal Centro di Ricerca Lino Rossi – presentano delle variabili che in parte sono già previste dai documenti richiamati al punto 1 e 2.
4. Questo ultimo aspetto, unitamente alla gestione unitaria (ed informatizzata) dei due flussi da parte di uno stesso servizio (Servizio Epidemiologia Clinica e Valutativa) che nel tempo ha sviluppato procedure consolidate di controllo della completezza e della qualità, aveva fatto inizialmente ipotizzare di poter gestire il flusso dati "aggiuntivo" previsto dalla convenzione e tecnicamente dalle due tipologie di schede anamnestiche, attraverso rispettivamente la Banca dati del Cedap e la Banca dati della Mortalità.
5. Una serie di considerazioni pratiche ha fatto per altro ritenere più adeguato l'utilizzo esclusivo delle schede anamnestiche sopra richiamate, per la raccolta dati perinatali e nel corso del primo anno di vita, sia in riferimento ai casi sia in riferimento ai controlli.
6. L'oggetto della sorveglianza, inerente alla legge 31 ed alla convenzione definita dalla Provincia Autonoma di Trento con il Centro Lino Rossi di Milano, non può quindi che configurarsi come *flusso informativo dedicato, parallelo ai flussi informativi routinari riferiti alla natalità (nato morto) ed alla mortalità (decesso per SIDS);*
7. La configurazione come flusso informativo parallelo è resa opportuna anche in considerazione di quanto segue:
 - a. Un'eventuale integrazione informatica della banca dati del Cedap, oltre ad appesantire l'attuale tracciato record, richiede tempi lunghi di adattamento dal parte del Service di riferimento di APSS
 - b. La durata della convenzione è definita in due anni (verosimilmente peraltro rinegoziabili) per cui non parrebbe utile introdurre delle modifiche strutturali dei flussi correnti, già difficili da gestire e controllare allo stato attuale, in riferimento ad un periodo temporale così limitato
8. Accertata l'esigua quota di gravide residenti nella Provincia autonoma di Trento che partoriscono in ospedali fuori provincia e l'ancor più limitato afflusso nei punti nascita trentini di partorienti provenienti da altre Regioni o dalla Provincia autonoma di Bolzano, si assume che la sorveglianza epidemiologica della natimortalità e della SIDS riguardi tutti gli eventi presenti nei punti nascita della Provincia autonoma di Trento, con le ovvie limitazioni sull'effettiva possibilità di applicare - nei casi di SIDS - le schede domiciliari-ambientali.

Unità Operative, servizi ed operatori coinvolti

In un'ottica di centralizzazione delle attività anatomico-cliniche inerenti il riscontro diagnostico sulle vittime della sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) e di morte inaspettata fetale e alla luce del consolidato rapporto di collaborazione con il Centro di ricerca Lino Rossi, si è concordato d'individuare nell'**Unità Operativa di Anatomia Patologica di Rovereto il centro provinciale di riferimento per gli adempimenti previsti dalla legge 31/2006.**

Pertanto i nati morti dal 180° giorno di vita in poi (esclusi gli aborti terapeutici ed i nati malformati) ed i neonati deceduti entro i 12 mesi di vita **senza cause evidenti** verranno sottoposti ad accertamento diagnostico presso l'Unità Operativa di Anatomia Patologica di Rovereto.

L'Unità Operativa di Anatomia Patologica di Rovereto si farà carico di:

- effettuare i riscontri diagnostici sui presunti casi di MIF e di SIDS di tutta la provincia;
- effettuare l'indagine clinico-epidemiologica a domicilio per i casi di SIDS in collaborazione con il medico necroscopo, il ginecologo ed il pediatra;
- gestire il flusso delle schede di rilevazione epidemiologica di MIF e SIDS verso il Centro di ricerca Lino Rossi.

A tal fine verrà predisposta una procedura che definisca le modalità di conservazione e trasporto dei prodotti abortivi, dei nati morti e dei neonati morti entro il primo anno di vita che dovrà essere condivisa con le Direzioni sanitarie e le Pompe funebri con esse convenzionate.

Per quanto riguarda lo studio epidemiologico, il gruppo di lavoro ha stabilito di affidare ed incentrare la raccolta dei dati epidemiologici di interesse ad un nucleo definito di operatori sanitari, anziché distribuirli su tutti gli operatori sanitari che, di volta in volta, ne potrebbero essere coinvolti.

Questo, insieme all'individuazione di un unico centro di riferimento provinciale, permetterà di:

- non disperdere energie e risorse per formare un grandissimo numero di professionisti rispetto alla gestione di eventi rari;
- standardizzare meglio le procedure inerenti la gestione dei casi di MIF e SIDS a livello provinciale.

Il nucleo di operatori è costituito da:

1. un medico ginecologo ed un'ostetrica per ciascun punto nascita provinciale (morti fetali);
2. i medici dell'Anatomia patologica di Rovereto, con la collaborazione dei reparti ospedalieri interessati (casi di presunta SIDS).

Questo nucleo di operatori, attivati opportunamente dal "punto di identificazione del caso" (punto nascita, domicilio) interverranno sul posto per gli adempimenti previsti:

1. acquisizione consenso genitori all'autopsia;
2. richiesta di autopsia;
3. compilazione della scheda inerente il caso;
4. compilazione della scheda inerente i controlli (dopo che sono stati selezionati dal punto nascita competente);
5. compilazione della scheda domiciliare e ambientale (in caso di SIDS).

Per gli operatori individuati verrà attivato un apposito percorso formativo.

Allegato 7

Epidemiologia della natimortalità e della morte neonatale in Provincia di Trento (2006-2011)

Natimortalità

2006	2007	2008	2009	2010	2011
11	15	16	11	20	9

Media Anno: 13,7

Punto nascita	Frequenza
S. Chiara	39
Cles	11
Arco	10
Rovereto	9
Tione	5
S. Camillo	4
Cavalese	3
Domicilio	1
Totale	82

Accertamento autoptico 2006-2011: $76/82 = 93 \%$

Fonte: Flusso CEDAP

Morti presenti in provincia di Trento, per anno di calendario e età cronologica. Periodo 2006-2011

N. nati per periodo di tempo	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2006 2011	MEDIA ANNUA
N. nati vivi e deceduti entro il 1° giorno	3	3	4	3	4	3	20	3,3
N. nati vivi e deceduti dal 2° al 7° giorno	4	0	2	3	2	3	14	2,3
N. nati vivi e deceduti dall'8° al 30° giorno	5	1	5	0	3	1	15	2,5
N. nati vivi e deceduti dal 31° giorno al 12° mese	4	4	6	3	5	7	29	4,8
Totale	16	8	17	9	14	14	78	13,0

Riscontro autoptico richiesto	13	5	15	9	6	10	58	74.4 %
-------------------------------	----	---	----	---	---	----	----	--------

Fonte: RENCAM – Provincia di Trento

Nati morti senza cause apparenti

Definizione di caso

Per nato morto si intende qualsiasi feto morto dopo almeno 180 giorni di gestazione (25 settimane + 5 giorni), che non mostri alcun segno di vitalità, come respiro spontaneo o dopo stimolazioni, pulsazioni cardiache o del cordone ombelicale, o quando l'autopsia non metta in evidenza aria nei polmoni.

Per feto nato morto o morte intrauterina fetale (MIF) si intende la morte del prodotto del concepimento prima dell'espulsione o estrazione completa dall'utero materno, senza tener conto dell'età gestazionale; la morte è diagnosticata dal fatto che il feto dopo la separazione dalla madre non respira autonomamente e non presenta altri segni vitali come il battito cardiaco, le pulsazioni del cordone ombelicale o il movimento volontario dei muscoli.

Per SIUDS o Unexplained stillbirth si intende la morte fetale inspiegabile (corrispettivo fetale della SIDS) per cui non si individuano possibili cause: fetali, placentari, materne, ostetriche.

Ai fini degli adempimenti della legge 31/2006 si considerano i nati morti (dopo almeno 180 giorni di gestazione) per cause inspiegabili.

Punto di identificazione

Punto nascita (U.O. Ostetricia e Ginecologia)

Punto di raccolta dei dati

Punto nascita (U.O. Ostetricia e Ginecologia)

Strumento di raccolta dei dati

Scheda cartacea anamnestica ad hoc (**vedi allegato 1**)

Operatore che raccoglie i dati

- Ginecologo
- Ostetrica

Fonte dei dati (necessari per compilare la scheda)

- Cedap
- Cartella clinica
- Colloquio con i genitori

Allegato 7

Timing di compilazione della scheda cartacea per i casi

- Dovrebbe avvenire entro il minor tempo possibile dall'evento. Desiderabile entro 1 giorno, accettabile entro la seconda giornata. Condizionabile in ogni caso dal contesto specifico del reparto in occasione dell'evento.

Carico di lavoro stimato

- Prendendo a riferimento i dati sui nati morti "presenti" in provincia di Trento nel periodo 2006-2010, ci si attende un numero annuo di eventi pari a 14-15; l'ospedale S. Chiara raccoglie il 50% circa della casistica, i punti nascita di S. Camillo e Tione registrano meno di un caso all'anno. Il riscontro autoptico è effettuato nell'85% dei casi.

Scelta dei controlli

Per ogni caso andranno scelti 2 controlli, se possibile entro i range temporali, omogenei ai casi per:

- *Genere* (caso maschio-controllo maschio)
- *Cittadinanza* (italiano-italiano, straniero-straniero)
- *Con margine di oscillazione* fino a 5-7 giorni prima e fino a 5-7 giorni dopo la nascita del caso indice (per punti nascita con meno nati, Cavalese-Tione: proponibile l'estensione del margine temporale di identificazione dei controlli ai nati in data anteriore/posteriore più prossima a quella del caso indice).

L'identificazione dei controlli verrà fatta dal punto nascita nel quale si è verificato il caso.

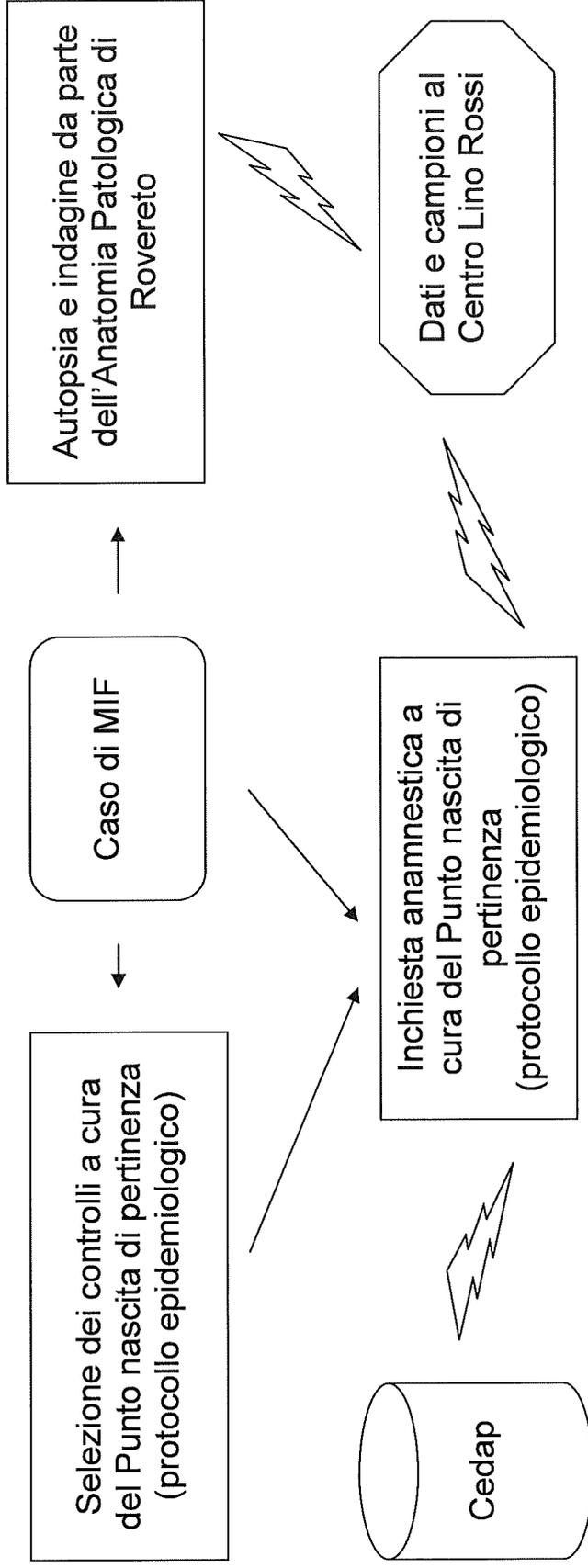
Compilazione scheda controlli

Verrà effettuata dagli stessi operatori che compilano la scheda casi.

Al fine di semplificare la raccolta dati, la scelta dei controlli dovrebbe - nei limiti del possibile - ricadere sui neonati non ancora dimessi dal punto nascita. Nel caso in cui il controllo idoneo risultasse già dimesso dal punto nascita, la compilazione della scheda clinico-anamnestica potrà essere completata anche conducendo un'intervista telefonica ad entrambi i genitori.

Tempi di invio della scheda compilata

Entro, al massimo, una settimana dall'evento.



Neonati deceduti nel primo anno di vita per SIDS

Definizione di caso

Neonato o lattante (dalla nascita all'anno di età) che muore improvvisamente senza cause organiche evidenti.

La diagnosi di sindrome di morte improvvisa del lattante (SIDS) può essere posta dopo esclusione dell'occorrenza di altre condizioni note ed in relazione ad un attento e competente esame autoptico.

Si può peraltro ragionevolmente ipotizzare di essere di fronte ad un caso di morte improvvisa del lattante quando, il primo operatore sanitario che ne viene a contatto, non rilevi cause apparenti di decesso (incidenti, traumi, patologie note e/o pregresse).

Punto di identificazione

Abitazione/altro luogo in cui avviene il decesso del neonato

Punto di definizione di caso

U. O. Anatomia Patologica di Rovereto

Punto di raccolta dei dati

A domicilio, da parte dell'U.O. Anatomia patologica di Rovereto con la collaborazione dei reparti ospedalieri interessati.

Strumento di raccolta dei dati

Scheda cartacea ad hoc (vedi allegato 3)

Operatore che raccoglie i dati

- Patologo, con la collaborazione degli operatori dei punti nascita. in particolare del medico richiedente.

Fonte dei dati (necessari per compilare la scheda)

- Cedap (da richiedere al punto nascita una volta accertato dove è nato il bambino)
- Cartella clinica
- Colloquio con i genitori

Timing di compilazione della scheda cartacea per i casi

- Dovrebbe avvenire entro il minor tempo possibile dall'evento. Desiderabile entro 1 giorno, accettabile entro la seconda giornata. Condizionabile in ogni caso dal contesto specifico dell'evento.

Allegato 7

Carico di lavoro stimato

- Prendendo a riferimento i dati sui decessi "presenti" in provincia di Trento nel periodo 2006-2010, ci si attende un numero medio annuo di eventi pari a circa 13. Da questo denominatore vanno tratti i casi da definire come casi di SIDS. Una precedente ricerca del Servizio Epidemiologia Clinica e Valutativa dell'APSS ha stimato un numero di casi di SIDS – nel periodo 1998-2008, pari a 4, per una media annua di 0,36 casi. La maggior parte dei decessi nel corso del primo anno di vita avviene presso istituti di cura pubblici ed il riscontro autoptico è effettuato nel 75% dei casi.

Scelta dei controlli

Verrà effettuata dagli stessi operatori che compilano la scheda casi tra tutti i nati vivi e viventi entro il 12° mese.

Il Patologo individua il punto nascita del caso, e lo contatta allo scopo di invitarlo a selezionare i due controlli idonei. Il punto nascita del controllo dovrà essere contenuta entro un margine di tempo di una settimana anteriore/posteriore rispetto alla data di nascita del caso), del genere del caso (maschio vs.maschio), della cittadinanza (italiano vs. italiano, straniero vs. straniero).

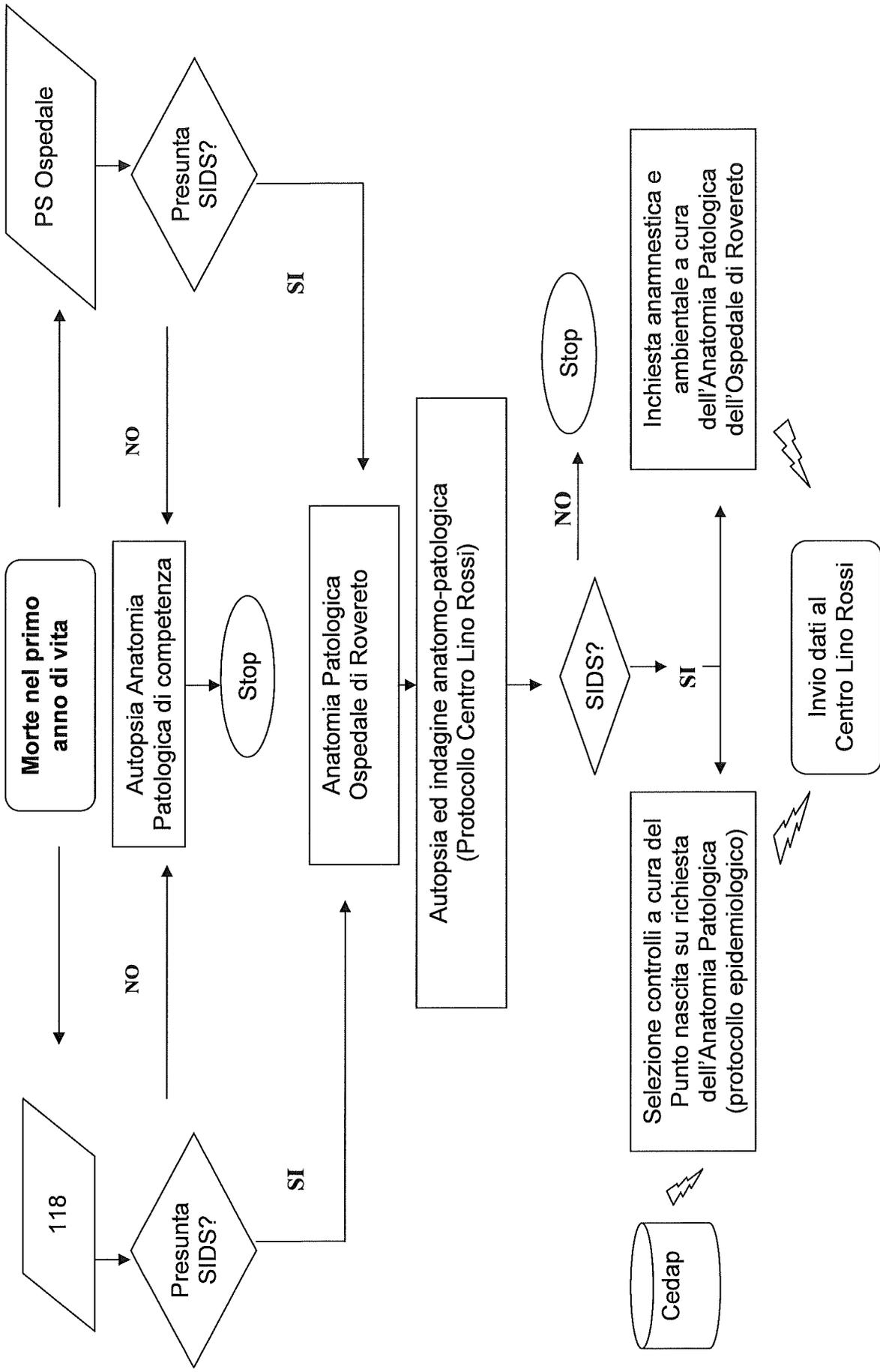
Il Patologo procederà a somministrare la scheda anamnestica, la scheda ambientale e la scheda domiciliare (**vedi allegato 5,6**), eventualmente per via telefonica.

Compilatore scheda controlli – 1 –, scheda controlli – 2 –, scheda domiciliare e scheda ambientale per i casi, solo scheda ambientale per i controlli

- Patologo

Tempi di invio della scheda compilata

Entro al massimo una settimana dall'evento



**Conservazione e trasporto dei prodotti abortivi, dei nati morti e dei neonati morti entro il primo anno di vita (SIDS)
Proposta di procedura (da condividere con le Direzioni sanitarie)**

1. Prodotti abortivi sotto i 180 giorni (25 settimane e 5 giorni)

a. Con richiesta di riscontro diagnostico

Se l'espulsione del feto avviene prima del 180° giorno (pari a 25 settimane e 5 giorni) verrà inviato dall'U.O. di Ostetricia e Ginecologia all'Anatomia Patologica di competenza. I prodotti abortivi dovranno essere trasportati in contenitori di polistirolo o legno. Il trasporto è a carico dei furgoni economici.

In attesa del trasporto il prodotto abortivo dovrà essere conservato in luogo fresco non superiore ai 4° (in frigo).

b. Senza richiesta di riscontro diagnostico

Il prodotto abortivo deve essere inviato in Anatomia Patologica in appositi contenitori pre-riempiti di formalina.

2. Nati morti sopra i 180 giorni

Va sempre eseguita l'autopsia.

Il feto va inviato all'Anatomia Patologica di Rovereto tramite le Pompe Funebri in piccole bare di legno.

Il feto deve essere inviato il più presto possibile all'Anatomia Patologica.

In attesa del trasporto deve restare nella camera mortuaria ospedaliera con il coperchio refrigerante.

P.S. tutti i nati morti e i feti reclamati, che sostano in camera mortuaria devono essere trascritti nel registro del "Movimento salme" e, dopo gli esami istologici e autoptici, ritornano nel rispettivo Ospedale di appartenenza.

3. SIDS

Va sempre eseguita l'autopsia.

Il neonato va inviato all'Anatomia Patologica di Rovereto tramite le Pompe Funebri in piccole bare di legno.

Il neonato deve essere inviato il più presto possibile all'Anatomia Patologica.

In attesa del trasporto deve restare nella camera mortuaria ospedaliera con il coperchio refrigerante.

P.S. tutti i neonati che sostano in camera mortuaria devono essere trascritti nel registro del "Movimento salme" e, dopo gli esami istologici e autoptici, ritornano nel rispettivo Ospedale di appartenenza/domicilio.

<p>Aspetti organizzativi generali</p>
--

1. Il coordinamento complessivo del progetto sarà svolto dall'Osservatorio per la salute dell'Assessorato alla salute e politiche sociali.
2. Il coordinamento per il livello aziendale sarà svolto dal Dipartimento materno infantile.
3. L'Anatomia patologica di Rovereto verrà individuata quale centro provinciale di riferimento per gli adempimenti previsti dalla legge 31/2006 (atto interno aziendale?) e si farà carico: di effettuare i riscontri diagnostici sui presunti casi di MIF e di SIDS di tutta la provincia; di effettuare l'indagine clinico-epidemiologica a domicilio per i casi di SIDS in collaborazione con il medico necroscopo, il ginecologo e il pediatra; di gestire il flusso delle schede di rilevazione epidemiologica di MIF e SIDS verso il Centro di ricerca Lino Rossi.
4. E' stata predisposta una procedura aziendale per la gestione dei prodotti abortivi, che fa riferimento, in particolare, alle modalità di trasporto (ospedali/Anatomia patologica di Rovereto, Anatomia patologica di Rovereto/domicilio/cimitero).
5. Andrà curata nei particolari la procedura dell'ottenimento del consenso informato (per il riscontro autoptico e per la raccolta dei dati) da parte di ambedue i genitori e quella per la corretta comunicazione nei confronti dei genitori dei casi. La formazione rivolta agli operatori sanitari referenti sarà incentrata, in particolare, su questi aspetti.
6. Verrà messa a punto una campagna d'informazione/sensibilizzazione rivolta alla popolazione generale preceduta da una conferenza stampa dell'Assessore.

ALLEGATI

Allegato 7

titolo di studio: elementare media inf. media sup. laurea

occupazione: disoccupata casalinga operaia impiegata professionista

Patologie importanti (elencare le principali) _____

n° parti precedenti n° nati vivi n° nati morti n° aborti spontanei

n° IVG (interruzioni volontarie di gravidanza) data ultimo parto precedente

Decorso gravidanza del parto precedente _____

Decorso ultima gravidanza normale problematica specificare _____

Data ultima mestruazione data presunta parto anam.tico

Data presunta parto ecografico n° visite di controllo in gravidanza

Prima visita di controllo in gravidanza a settimane

durante la gravidanza ha sofferto di anemia infezioni urinarie altro, specificare _____

Malattia ipertensiva: Si : / gestazionale / pregestazionale No

Diabete: Si : / gestazionale / pregestazionale No

Alterazioni della coagulazione: Si No



- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> fattore V di Leiden | <input type="checkbox"/> resistenza proteina C attivata |
| <input type="checkbox"/> mutazione gene protrombina | <input type="checkbox"/> deficienza proteina C |
| <input type="checkbox"/> deficienza proteina S | <input type="checkbox"/> iperomocisteinemia |
| <input type="checkbox"/> MTHFR | |

malattie autoimmuni: Si No



- | | | | |
|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> S. Sjogren | <input type="checkbox"/> S. anticorpi antifosfolipidi | <input type="checkbox"/> LES | <input type="checkbox"/> altro |
|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------------|

Allegato 7

INFEZIONE MATERNA PRECONCEZIONALE

- | | | | |
|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> HIV | <input type="checkbox"/> HBV | <input type="checkbox"/> HCV | <input type="checkbox"/> LUE |
| <input type="checkbox"/> TOXO | <input type="checkbox"/> CMV | <input type="checkbox"/> RUBEO | <input type="checkbox"/> altro |

INFEZIONE MATERNA PERI – POSTCONCEZIONALE

- | | | |
|--|---|---|
| <input type="checkbox"/> TOXO | <input type="checkbox"/> CMV | <input type="checkbox"/> ureaplasma urealyticum |
| <input type="checkbox"/> RUBEO | <input type="checkbox"/> varicella zoster virus | <input type="checkbox"/> mycoplasma hominis |
| <input type="checkbox"/> parvovirus B19no | <input type="checkbox"/> coxackie virus | <input type="checkbox"/> E. coli |
| <input type="checkbox"/> strepto β emol. Gr. B | <input type="checkbox"/> listeria | <input type="checkbox"/> altro |

ALTRE PATOLOGIE DELLA GESTANTE

- | | | | |
|--|---|--------------------------------------|---------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> disturbi tiroide | <input type="checkbox"/> ipofisi | <input type="checkbox"/> cardiopatia | <input type="checkbox"/> p.gie renali |
| <input type="checkbox"/> colestasi gravidica | <input type="checkbox"/> parodontopatie | <input type="checkbox"/> altro | |

TEST DI SCREENING PER CROMOSOPATIE

Screening: Si No

NT: patologico non patologico

NT + BI test: patologico non patologico

Triplo test: patologico non patologico



S. Down	DTN	dato mancante
---------	-----	---------------

Allegato 7

INDAGINI PRENATALI INVASIVE

Biopsia villocoriale: non effettuata normale patologico, specificare _____

Amniocentesi: non effettuata normale patologico, specificare _____

Funicolocentesi: non effettuata normale patologico, specificare _____

Fetoscopia: non effettuata normale patologico, specificare _____

ECOGRAFIA: non effettuata normale patologica, specificare _____



malformazioni fetali

cardiache

SNC

parete addominale

tratto gastroenterico

arteria ombelicale unica

apparato muscolo scheletrico

placenta

distacco intempestivo

previa

vasi previ

infarto

accreta-percreta

utero

malformazioni:

.....

RICOVERO DURANTE LA GRAVIDANZA: Sì No



principale diagnosi di dimissione:

codice.....descrizione.....

codice.....descrizione.....

Allegato 7

Uso di sedativi e/o farmaci in gravidanza: Si No



Codice ATC.....
Nome commerciale.....
Principio attivo.....

tipo di parto eutocico taglio cesareo applicazione forcipe ventosa

quante ore è durato il travaglio? n° ore

DIPENDENZE

FUMO	ATTIVO			PASSIVO			
	NO	SI	SIGARETTE n°/DIE	A CASA		AL LAVORO	
				NO	SI	NO	SI
fino al concepimento		dall'età di anni_____			dall'età di anni_____		dall'età di anni_____
durante la gravidanza		fino alla sett.gest.____			fino alla sett. gest____		fino alla sett.gest.____
dopo il parto		fino all'età del bambino di giorni____			fino all'età del bambino di giorni____		fino all'età del bambino di giorni____

caffè (no tazze/die)

alcool no si _____

droghe no si _____

Allegato 7

PADRE cognome _____ nome _____

età del padre

data di nascita del padre

comune di residenza _____ provincia

Nazionalità italiana altro specificare _____

stato civile: coniugato separato/divorziato vedovo celibe

titolo di studio: elementare media inf. media sup. laurea

occupazione: disoccupato operaio impiegato professionista

Patologie importanti (elencare le principali) _____

DIPENDENZE

fumo No Si specificare il periodo dal _____ al _____

n. sigarette/dì: 1-5 6-10 11-20 oltre 20

A che età ha iniziato a fumare?

caffè (no tazze/die)

alcool no si _____

droghe no si _____

farmaci no si _____

Allegato 7

FRATELLI / SORELLE n°

NOME	Sesso	Nato il							Tipo di parto	Stato di salute

	VIVO	MALATTIE				MORTO ALL'ETA' DI		CAUSA*
		EREDITARIE	GENETICHE	DISMETABOLICHE	ALTRO	MESI	ANNI	
1								
2								
3								
4								
5								

*specificare se morto per SIDS

nelle vostre famiglie:

si sono verificate morti improvvise inaspettate tra 0 e 20 anni?

sì no non so se sì, indicare il n°

il grado di parentela _____ l'età in anni

qualcuno è affetto da alterazioni del ritmo cardiaco (ad esempio, sindrome del qt lungo)?

sì no non so se sì, indicare il n°

il grado di parentela _____ l'età in anni

si sono verificati casi di ALTE* in famiglia?

sì no non so se sì, indicare il n°

il grado di parentela _____ l'età in anni

* ALTE: Apparent Life Threatening Event (o near-miss for SIDS)



SCHEDA DATI ANAMNESTICI
Sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS)

1. ANAGRAFICA

Provenienza (osped/casa di cura/asl)

reparto pronto soccorso

n° rif. (cart. clinica/n. riscontro diagnostico) _____

data

cognome _____

nome _____

data di nascita

sexo M

F

Sede del decesso domiciliare ospedaliera

_____ nome della struttura sanitaria

comune di residenza _____

via/p.zza _____ n. _____

c.a.p.

telefono _____

Nazionalità italiana altro specificare _____

ha fratello/sorella gemello/a? si no se SI, monozigote dizigote non so

data del decesso

ora

settimane di gestazione

peso alla nascita (gr)

lunghezza (cm)

apgar 5' 10'

allattamento materno

artificiale

misto

svezzamento si no

crescita regolare si no

ultimo controllo pediatrico peso (gr)

lunghezza (cm)

ha eseguito vaccinazioni nell'ultimo mese? si no se si, presso _____

data dell'ultima vaccinazione e tipo di vaccinazione _____

Allegato 7

eventuali stati patologici (riscontrati o sospetti alla nascita o in gestazione) _____

Presenza di sintomi/disturbi antecedenti al decesso

specificare la frequenza

- | | | | |
|---|----------------------------------|--|-----------------------------|
| <input type="checkbox"/> raffreddore | <input type="checkbox"/> in atto | <input type="checkbox"/> frequente _____ | <input type="checkbox"/> no |
| <input type="checkbox"/> tosse | <input type="checkbox"/> in atto | <input type="checkbox"/> frequente _____ | <input type="checkbox"/> no |
| <input type="checkbox"/> febbre | <input type="checkbox"/> in atto | <input type="checkbox"/> frequente _____ | <input type="checkbox"/> no |
| <input type="checkbox"/> diarrea | <input type="checkbox"/> in atto | <input type="checkbox"/> frequente _____ | <input type="checkbox"/> no |
| <input type="checkbox"/> vomito / rigurgito | <input type="checkbox"/> in atto | <input type="checkbox"/> frequente _____ | <input type="checkbox"/> no |
| <input type="checkbox"/> nutrizione difficile | <input type="checkbox"/> in atto | <input type="checkbox"/> frequente _____ | <input type="checkbox"/> no |
| <input type="checkbox"/> esantema / eczema | <input type="checkbox"/> in atto | <input type="checkbox"/> frequente _____ | <input type="checkbox"/> no |

eventuali terapie _____

allergie conosciute no sì se sì, quali _____

nelle ultime due settimane è stato a contatto con persone affette da malattie infettive o virali?

no sì se sì, specificare da quale malattia _____

nelle ultime 48 ore:

l'appetito si è modificato? no sì (specificare) _____

ha pianto eccessivamente? no sì (specificare) _____

ha dormito più del solito? no sì (specificare) _____

è mai successo che durante il pianto il respiro si sia fermato, il bambino sia diventato pallido o

cianotico e abbia perso il tono muscolare? sì , no

è stato eseguito un ecg? sì no se sì, il

giorno mese anno

presso _____ esito _____

posizione durante il sonno supina prona sul fianco

sonno regolare difficoltoso

Allegato 7

sudorazione eccessiva normale abbondante

ipertermia sì no

tabagismo passivo sì no

Allegato 7

2. GENITORI E FRATELLI

MADRE cognome _____ nome _____

età della madre data di nascita della madre

comune di residenza _____ provincia

Nazionalità italiana altro specificare _____

stato civile: coniugata separata/divorziata vedova nubile

titolo di studio: elementare media inf. media sup. laurea

occupazione: disoccupata casalinga operaia impiegata professionista

Patologie importanti (elencare le principali) _____

n° parti precedenti n° nati vivi n° nati morti n° aborti spontanei

n° IVG (interruzioni volontarie di gravidanza) data ultimo parto precedente

Decorso gravidanza del parto precedente _____

Decorso ultima gravidanza normale problematica specificare _____

Data ultima mestruazione data presunta parto anam.tico

Data presunta parto ecografico n° visite di controllo in gravidanza

Prima visita di controllo in gravidanza a settimane

durante la gravidanza ha sofferto di anemia infezioni urinarie altro, specificare _____

Malattia ipertensiva: Si : / gestazionale / pregestazionale No

Diabete: Si : / gestazionale / pregestazionale No

Allegato 7

Alterazioni della coagulazione: Si No



- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> fattore V di Leiden | <input type="checkbox"/> resistenza proteina C attivata |
| <input type="checkbox"/> mutazione gene protrombina | <input type="checkbox"/> deficienza proteina C |
| <input type="checkbox"/> deficienza proteina S | <input type="checkbox"/> iperomocisteinemia |
| <input type="checkbox"/> MTHFR | |

malattie autoimmuni: Si No



- | | | | |
|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> S. Sjogren | <input type="checkbox"/> S. anticorpi antifosfolipidi | <input type="checkbox"/> LES | <input type="checkbox"/> altro |
|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------------|

INFEZIONE MATERNA PRECONCEZIONALE

- | | | | |
|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> HIV | <input type="checkbox"/> HBV | <input type="checkbox"/> HCV | <input type="checkbox"/> LUE |
| <input type="checkbox"/> TOXO | <input type="checkbox"/> CMV | <input type="checkbox"/> RUBEO | <input type="checkbox"/> altro |

INFEZIONE MATERNA PERI – POSTCONCEZIONALE

- | | | |
|--|---|---|
| <input type="checkbox"/> TOXO | <input type="checkbox"/> CMV | <input type="checkbox"/> ureaplasma urealyticum |
| <input type="checkbox"/> RUBEO | <input type="checkbox"/> varicella zoster virus | <input type="checkbox"/> mycoplasma hominis |
| <input type="checkbox"/> parvovirus B19no | <input type="checkbox"/> coxackie virus | <input type="checkbox"/> E. coli |
| <input type="checkbox"/> strepto β emol. Gr. B | <input type="checkbox"/> listeria | <input type="checkbox"/> altro |

ALTRE PATOLOGIE DELLA GESTANTE

- | | | | |
|--|---|--------------------------------------|---------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> disturbi tiroide | <input type="checkbox"/> ipofisi | <input type="checkbox"/> cardiopatia | <input type="checkbox"/> p.gie renali |
| <input type="checkbox"/> colestasi gravidica | <input type="checkbox"/> parodontopatie | <input type="checkbox"/> altro | |

Allegato 7

TEST DI SCREENING PER CROMOSOPATIE

Screening: Si No

NT: patologico non patologico

NT + BI test: patologico non patologico

Triplo test: patologico non patologico



S. Down DTN dato mancante

INDAGINI PRENATALI INVASIVE

Biopsia villocoriale: non effettuata normale patologico, specificare _____

Amniocentesi: non effettuata normale patologico, specificare _____

Funicolocentesi: non effettuata normale patologico, specificare _____

Fetoscopia: non effettuata normale patologico, specificare _____

ECOGRAFIA: non effettuata normale patologica, specificare _____



malformazioni fetali

cardiache

SNC

parete addominale

tratto gastroenterico

arteria ombelicale unica

apparato muscolo scheletrico

placenta

distacco intempestivo

previa

vasi previ

infarto

accreta-percreta

utero

malformazioni:

.....

Allegato 7

RICOVERO DURANTE LA GRAVIDANZA: Si No



principale diagnosi di dimissione:

codice.....descrizione.....

codice.....descrizione.....

Uso di sedativi e/o farmaci in gravidanza: Si No



Codice ATC.....

Nome commerciale.....

Principio attivo.....

tipo di parto eutocico taglio cesareo applicazione forcipe ventosa

quante ore è durato il travaglio? n° ore

DIPENDENZE

FUMO	ATTIVO			PASSIVO			
	NO	SI	SIGARETTE n°/DIE	A CASA		AL LAVORO	
				NO	SI	NO	SI
fino al concepimento		dall'età di anni_____			dall'età di anni_____		dall'età di anni_____
durante la gravidanza		fino alla sett.gest.____			fino alla sett. gest____		fino alla sett.gest.____
dopo il parto		fino all'età del bambino di giorni____			fino all'età del bambino di giorni____		fino all'età del bambino di giorni____

Dove fuma? sul terrazzo alla finestra in casa

Se fuma in casa: in presenza del lattante in locali dove può soggiornare il lattante
 mai in presenza del lattante

caffè (no tazze/die)

alcool no si _____

droghe no si _____

Allegato 7

PADRE cognome _____ nome _____

età del padre

data di nascita del padre

comune di residenza _____ provincia

Nazionalità italiana altro specificare _____

stato civile: coniugato separato/divorziato vedovo celibe

titolo di studio: elementare media inf. media sup. laurea

occupazione: disoccupato operaio impiegato professionista

Patologie importanti (elencare le principali) _____

DIPENDENZE

fumo No Si specificare il periodo dal _____ al _____

n. sigarette/dì: 1-5 6-10 11-20 oltre 20

A che età ha iniziato a fumare?

Dove fuma? sul terrazzo alla finestra in casa

Se fuma in casa: in presenza del lattante in locali dove può soggiornare il lattante
 mai in presenza del lattante

caffè (no tazze/die)

alcool no si _____

droghe no si _____

farmaci no si _____

Allegato 7

FRATELLI / SORELLE n°

NOME	Sesso	Nato il						Tipo di parto	Stato di salute

VIVO	MALATTIE				MORTO ALL'ETA' DI		CAUSA*
	EREDITARIE	GENETICHE	DISMETABOLICHE	ALTRO	MESI	ANNI	
1							
2							
3							
4							
5							

*specificare se morto per SIDS

nelle vostre famiglie:

si sono verificate morti improvvise inaspettate tra 0 e 20 anni?

sì no non so se sì, indicare il n°

il grado di parentela _____ l'età in anni

qualcuno è affetto da alterazioni del ritmo cardiaco (ad esempio, sindrome del qt lungo)?

sì no non so se sì, indicare il n°

il grado di parentela _____ l'età in anni

si sono verificati casi di ALTE* in famiglia?

sì no non so se sì, indicare il n°

il grado di parentela _____ l'età in anni

* ALTE: Apparent Life Threatening Event (o near-miss for SIDS)

Allegato 7

3. SCENA DEL RITROVAMENTO

nome del bambino _____

trovato morto il ora

luogo di morte:

IN OSPEDALE: nome _____

IN CASA

- in culla/lettino
- in camera coi genitori in camera separata
- in altro luogo dell'abitazione, specificare _____
- a letto con i genitori
- a letto con altre persone, specificare _____
- nel seggiolone in braccio
- nel passeggino nell'infant-seat
- Temperatura nella stanza del ritrovamento ____ °C circa
- Temperatura del bambino _____ °C
- fumo nell'ambiente

FUORI CASA specificare _____

- nel passeggino in strada nel seggiolino in automobile in braccio
- abitazione altrui, specificare luogo del ritrovamento _____

SE CORICATO, la posizione era: supina prona sul fianco

in quale posizione dormiva solitamente _____

tipo di abbigliamento indossato _____

cuscino NO SI

succhiotto in bocca NO SI

catenine o nastri al collo NO SI

consistenza del materasso _____

oggetti/giocattoli nel lettino NO SI

ultimo pasto alle ore _____

materiale organico: in bocca NO SI, specificare _____

nel naso NO SI, specificare _____

nel pannolino NO SI, specificare _____

tentativi di rianimazione NO SI

Allegato 7

ASPETTO DEL BAMBINO QUANDO È STATO RITROVATO MORTO:

- | | |
|---|---------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> decolorazione attorno al volto/bocca | <input type="checkbox"/> sudato |
| <input type="checkbox"/> secrezioni (schiuma, bava) | <input type="checkbox"/> flaccido |
| <input type="checkbox"/> decolorazione cutanea (livor mortis) | <input type="checkbox"/> caldo |
| <input type="checkbox"/> segni da pressione (aree pallide, decolorazioni) | <input type="checkbox"/> freddo |
| <input type="checkbox"/> rash o petecchie (piccole, macchie rosse su cute, membrane, occhi) | <input type="checkbox"/> rigido |
| <input type="checkbox"/> impronte sul corpo (graffi o lividi) | <input type="checkbox"/> non valutato |
| <input type="checkbox"/> altro _____ | |

In quale giorno e a quale ora è stato somministrato l'ultimo pasto?

Giorno

Ora

Nome e ruolo della persona che ha somministrato l'ultimo pasto

Quali cibi e liquidi sono stati somministrati al bambino nelle ultime 24 ore (incluso l'ultimo pasto) e in quale quantità?

- latte materno _____ml
- latte in polvere _____gr
- latte di mucca _____ml
- acqua _____ml
- altri liquidi (thè, succo) _____ml
- cibi omogeneizzati o solidi _____gr
- altro _____gr/ml

C'è stato un nuovo alimento somministrato al bambino nelle ultime 24 ore?

- NO
- SI, specificare (passaggio a latte artificiale, svezzamento)

Il bambino è stato messo a dormire con il biberon?

- NO
- SI, specificare dove era appoggiato il biberon

chi ha rilevato la morte?

medico madre padre altri specificare _____

comportamento dei genitori _____

Allegato 7

Ulteriori elementi investigativi

Data dell'ultimo controllo pediatrico

alle domande, ha risposto (cognome, nome e grado di parentela)

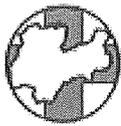
operatore che ha compilato la scheda (qualifica, cognome e nome leggibili)

data e ora _____

materiale raccolto

allegare foto ed eventuali video

NOTE



INDAGINE DOMICILIARE PER SIDS

cognome _____ nome _____

comune di residenza _____

via/p.zza _____ n. _____ tel _____

la famiglia è sempre stata residente in Provincia di Trento sì no
se no, da quanti anni è residente?

la famiglia è sempre stata residente in Italia sì no
se no, da quanti anni è residente?

struttura e specialisti che hanno seguito la gravidanza: _____

informazioni ricevute sulla gravidanza: _____

ha ricevuto informazioni sulla prevenzione della sids? no sì

attraverso: opuscoli/manifesti informazioni a voce TV/stampa altro

da chi? personale ospedaliero personale dell'ASSP pediatra

quando? nel corso pre-parto durante il ricovero altro

considerazioni dei genitori: _____

osservazioni: _____

Allegato 7

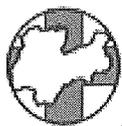
note di criticità: _____

bisogni del nucleo familiare: _____

piano d'intervento: _____

Rilevatore (qualifica, cognome e nome **leggibili**) _____

data e ora: _____



SCHEDA DI RILEVAZIONE AMBIENTALE

cognome _____ nome _____

comune di residenza _____

via/p.zza _____ n. _____ tel _____

data del decesso

ABITAZIONE

tipologia: appartamento casa monofamiliare altro

stato dell'immobile: buono discreto inadeguato

n° locali + servizi n° abitanti

riscaldamento: autonomo centralizzato

quale dei seguenti metodi utilizza per riscaldare l'ambiente della casa in cui si trovava il bambino?

termosifone condutture di aria calda stufa alimentata a carbone
carbon coke o a legna

calorifero elettrico ad accumulo di calore stufa a gas con fiamma libera stufa alimentata a
paraffina o kerosene

stufetta elettrica ventilata stufa a gas chiusa altro

locale dove si e' verificato l'evento: camera da letto salotto cucina

altro _____

temperatura (C°)

umidificatori no sì

condizioni delle pareti: buone discrete inadeguate

condizioni igieniche: buone discrete inadeguate



SCHEDA DATI ANAMNESTICI
Scheda CONTROLLO di caso SIDS

1. ANAGRAFICA

Provenienza (osped/casa di cura/asl)

cognome _____ nome _____

data di nascita sesso M F

comune di residenza _____

via/p.zza _____ n. _____ c.a.p.

telefono _____

Nazionalità italiana altro specificare _____

ha fratello/sorella gemello/a? si no se SI, monozigote dizigote non so

settimane di gestazione peso alla nascita (gr)

lunghezza (cm) apgar 5' 10'

allattamento materno artificiale misto

svezzamento si no crescita regolare si no

ultimo controllo pediatrico peso (gr) lunghezza (cm)

ha eseguito vaccinazioni nell'ultimo mese? si no se si, presso _____

data dell'ultima vaccinazione e tipo di vaccinazione _____

eventuali stati patologici (riscontrati o sospetti alla nascita o in gestazione) _____

Allegato 7

Presenza di sintomi/disturbi dopo la nascita

specificare la frequenza

<input type="checkbox"/> raffreddore	<input type="checkbox"/> in atto	<input type="checkbox"/> frequente _____	<input type="checkbox"/> no
<input type="checkbox"/> tosse	<input type="checkbox"/> in atto	<input type="checkbox"/> frequente _____	<input type="checkbox"/> no
<input type="checkbox"/> febbre	<input type="checkbox"/> in atto	<input type="checkbox"/> frequente _____	<input type="checkbox"/> no
<input type="checkbox"/> diarrea	<input type="checkbox"/> in atto	<input type="checkbox"/> frequente _____	<input type="checkbox"/> no
<input type="checkbox"/> vomito / rigurgito	<input type="checkbox"/> in atto	<input type="checkbox"/> frequente _____	<input type="checkbox"/> no
<input type="checkbox"/> nutrizione difficile	<input type="checkbox"/> in atto	<input type="checkbox"/> frequente _____	<input type="checkbox"/> no
<input type="checkbox"/> esantema / eczema	<input type="checkbox"/> in atto	<input type="checkbox"/> frequente _____	<input type="checkbox"/> no

eventuali terapie _____

allergie conosciute no sì se sì, quali _____

nelle ultime due settimane è stato a contatto con persone affette da malattie infettive o virali?

no sì se sì, specificare da quale malattia _____

nelle ultime 48 ore:

l'appetito si è modificato? no sì (specificare) _____

ha pianto eccessivamente? no sì (specificare) _____

ha dormito più del solito? no sì (specificare) _____

è mai successo che durante il pianto il respiro si sia fermato, il bambino sia diventato pallido o cianotico e abbia perso il tono muscolare? sì , no

è stato eseguito un ecg? sì no se sì, il

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

giorno mese anno

presso _____ esito _____

Sede del riposo/sonno culla/lettino camera separata camera con genitori

in altro luogo dell'abitazione (specificare) _____

a letto con i genitori no sì saltuariamente

a letto con altre persone no sì (specificare) _____

Allegato 7

posizione abituale nel sonno, supina prona sul fianco
sonno regolare difficoltoso

tipo di abbigliamento indossato nel sonno _____

cuscino sì no
succhiotto in bocca sì no
catenine/nastri al collo sì no
oggetti/giocattoli nel lettino sì no
sudorazione eccessiva normale abbondante
ipertermia sì no
tabagismo passivo sì no

2. GENITORI E FRATELLI

MADRE cognome _____ nome _____

età della madre data di nascita della madre

comune di residenza _____ provincia

Nazionalità italiana altro specificare _____

stato civile: coniugata separata/divorziata vedova nubile

titolo di studio: elementare media inf. media sup. laurea

occupazione: disoccupata casalinga operaia impiegata professionista

Patologie importanti (elencare le principali) _____

n° parti precedenti n° nati vivi n° nati morti n° aborti spontanei

n° IVG (interruzioni volontarie di gravidanza) data ultimo parto precedente

Decorso gravidanza del parto precedente _____

Decorso ultima gravidanza normale problematica specificare _____

Allegato 7

Data ultima mestruazione data presunta parto anam.tico

Data presunta parto ecografico n° visite di controllo in gravidanza

Prima visita di controllo in gravidanza a settimane

durante la gravidanza ha sofferto di anemia infezioni urinarie altro, specificare _____

Malattia ipertensiva: Si : / gestazionale / pregestazionale No

Diabete: Si : / gestazionale / pregestazionale No

Alterazioni della coagulazione: Si No



- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> fattore V di Leiden | <input type="checkbox"/> resistenza proteina C attivata |
| <input type="checkbox"/> mutazione gene protrombina | <input type="checkbox"/> deficienza proteina C |
| <input type="checkbox"/> deficienza proteina S | <input type="checkbox"/> iperomocisteinemia |
| <input type="checkbox"/> MTHFR | |

malattie autoimmuni: Si No



- | | | | |
|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> S. Sjogren | <input type="checkbox"/> S. anticorpi antifosfolipidi | <input type="checkbox"/> LES | <input type="checkbox"/> altro |
|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------------|

INFEZIONE MATERNA PRECONCEZIONALE

- | | | | |
|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> HIV | <input type="checkbox"/> HBV | <input type="checkbox"/> HCV | <input type="checkbox"/> LUE |
| <input type="checkbox"/> TOXO | <input type="checkbox"/> CMV | <input type="checkbox"/> RUBEO | <input type="checkbox"/> altro |

INFEZIONE MATERNA PERI – POSTCONCEZIONALE

- | | | |
|--|---|---|
| <input type="checkbox"/> TOXO | <input type="checkbox"/> CMV | <input type="checkbox"/> ureaplasma urealyticum |
| <input type="checkbox"/> RUBEO | <input type="checkbox"/> varicella zoster virus | <input type="checkbox"/> mycoplasma hominis |
| <input type="checkbox"/> parvovirus B19no | <input type="checkbox"/> coxackie virus | <input type="checkbox"/> E. coli |
| <input type="checkbox"/> strepto β emol. Gr. B | <input type="checkbox"/> listeria | <input type="checkbox"/> altro |

ALTRE PATOLOGIE DELLA GESTANTE

- | | | | |
|--|---|--------------------------------------|---------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> disturbi tiroide | <input type="checkbox"/> ipofisi | <input type="checkbox"/> cardiopatia | <input type="checkbox"/> p.gie renali |
| <input type="checkbox"/> colestasi gravidica | <input type="checkbox"/> parodontopatie | <input type="checkbox"/> altro | |

Allegato 7

TEST DI SCREENING PER CROMOSOPATIE

Screening: Si No

NT: patologico non patologico

NT + BI test: patologico non patologico

Triplo test: patologico non patologico



S. Down	DTN	dato mancante
---------	-----	---------------

INDAGINI PRENATALI INVASIVE

Biopsia villocoriale: non effettuata normale patologico, specificare _____

Amniocentesi: non effettuata normale patologico, specificare _____

Funicolocentesi: non effettuata normale patologico, specificare _____

Fetoscopia: non effettuata normale patologico, specificare _____

ECOGRAFIA: non effettuata normale patologica, specificare _____



malformazioni fetali

cardiache

SNC

parete addominale

tratto gastroenterico

arteria ombelicale unica

apparato muscolo scheletrico

placenta

distacco intempestivo

previa

vasi previ

infarto

accreta-percreta

utero

malformazioni:

.....

Allegato 7

RICOVERO DURANTE LA GRAVIDANZA: Si No



principale diagnosi di dimissione:

codice.....descrizione.....

codice.....descrizione.....

Uso di sedativi e/o farmaci in gravidanza: Si No



Codice ATC.....

Nome commerciale.....

Principio attivo.....

tipo di parto eutocico taglio cesareo applicazione forcipe ventosa

quante ore è durato il travaglio? n° ore

DIPENDENZE

FUMO	ATTIVO			PASSIVO			
	NO	SI	SIGARETTE n°/DIE	A CASA		AL LAVORO	
				NO	SI	NO	SI
fino al concepimento		dall'età di anni_____			dall'età di anni_____		dall'età di anni_____
durante la gravidanza		fino alla sett.gest.____			fino alla sett. gest____		fino alla sett.gest.____
dopo il parto		fino all'età del bambino di giorni____			fino all'età del bambino di giorni____		fino all'età del bambino di giorni____

Dove fuma? sul terrazzo alla finestra in casa

Se fuma in casa: in presenza del lattante in locali dove può soggiornare il lattante

mai in presenza del lattante

caffè (no tazze/die)

alcool no si _____

droghe no si _____

Allegato 7

PADRE cognome _____ nome _____

età del padre

data di nascita del padre

comune di residenza _____ provincia

Nazionalità italiana altro specificare _____

stato civile: coniugato separato/divorziato vedovo celibe

titolo di studio: elementare media inf. media sup. laurea

occupazione: disoccupato operaio impiegato professionista

Patologie importanti (elencare le principali) _____

DIPENDENZE

fumo No Si specificare il periodo dal _____ al _____

n. sigarette/dì: 1-5 6-10 11-20 oltre 20

A che età ha iniziato a fumare?

Dove fuma? sul terrazzo alla finestra in casa

Se fuma in casa: in presenza del lattante in locali dove può soggiornare il lattante
 mai in presenza del lattante

caffè (no tazze/die)

alcool no si _____

droghe no si _____

farmaci no si _____

Allegato 7

FRATELLI / SORELLE n°

NOME	Sesso	Nato il							Tipo di parto	Stato di salute

	VIVO	MALATTIE				MORTO ALL'ETA' DI		CAUSA*
		EREDITARIE	GENETICHE	DISMETABOLICHE	ALTRO	MESI	ANNI	
1								
2								
3								
4								
5								

*specificare se morto per SIDS

nelle vostre famiglie:

si sono verificate morti improvvise inaspettate tra 0 e 20 anni?

sì no non so se sì, indicare il n°

il grado di parentela _____ l'età in anni

qualcuno è affetto da alterazioni del ritmo cardiaco (ad esempio, sindrome del qt lungo)?

sì no non so se sì, indicare il n°

il grado di parentela _____ l'età in anni

si sono verificati casi di ALTE* in famiglia?

sì no non so se sì, indicare il n°

il grado di parentela _____ l'età in anni

* ALTE: Apparent Life Threatening Event (o near-miss for SIDS)

Gli autori

Graziella Alfonsi

Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

Achille Cappiello

Laboratorio di Cromatografia Liquida-Spettrometria di Massa, Università degli Studi di Urbino, Urbino.

Valentina Casale

Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

Melissa Corna

Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

Anna Maria Lavezzi

Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

Luigi Maturri

Presidente del - Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

Donatella Mecchia

Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

Roberta Oneda

Centro di ricerca "Lino Rossi" per lo studio e la prevenzione della morte inaspettata perinatale e della SIDS, Università degli Studi di Milano

Veronica Termopoli

Laboratorio di Cromatografia Liquida-Spettrometria di Massa, Università degli Studi di Urbino, Urbino.

Si ringrazia il signor Andrea Bortolotti per la collaborazione nell'allestimento del testo.

L'elenco delle pubblicazioni edite dall'Assessorato provinciale alla Salute e solidarietà sociale e le versioni digitali in formato PDF, liberamente scaricabili, sono disponibili nel portale del Servizio Sanitario Provinciale www.trentinosalute.net.

Le pubblicazioni possono essere richieste, fino a esaurimento copie, a:
Provincia Autonoma di Trento
Servizio Politiche sanitarie e per la non autosufficienza
Ufficio Formazione e sviluppo delle risorse umane
Via Gilli 4, 38121 Trento
tel. 0461 494105, fax 0461 494175
formazione.sanita@provincia.tn.it.

Dove non indicato diversamente le pubblicazioni vengono distribuite a titolo gratuito.
Per l'acquisto delle pubblicazioni non distribuite gratuitamente è necessario effettuare anticipatamente il pagamento dell'importo corrispondente:

- con c/c postale n. 295386 intestato al Tesoriere della Provincia Autonoma di Trento - UNICREDIT BANCA SPA - Divisione Caritro - Via Galilei, 1 - Sede di Trento;
- tramite bonifico bancario (codice IBAN: Paese IT, CIN EUR 12, CIN S, ABI 02008, CAB 01820, n. conto 000003774828); precisando come causale: "Acquisto pubblicazione: Titolo...".

La consegna della pubblicazione avverrà dietro presentazione della ricevuta di pagamento:

- direttamente presso la Biblioteca;
- tramite spedizione postale, previo ricevimento del cedolino al n. di fax 0461 495095, con spese a carico dell'Amministrazione provinciale.

Stampato per conto della Casa editrice Provincia autonoma di Trento
dal Centro stampa della Provincia autonoma di Trento

Autonomia. Il diritto di sentirsi in dovere.



PROVINCIA
AUTONOMA
DI TRENTO



www.trentinosalute.net



Google currents