



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Tecniche di Laboratorio Biomedico

La Morte Endouterina Fetale (MEF) e il Ruolo del
Tecnico di Laboratorio Biomedico
Intrauterine Fetal Death (IUFD) and the Role of the
Biomedical Laboratory Technician

Relatore:

Dott.ssa Goteri Gaia

Tesi di Laurea di:

Noora Marianna

Anno Accademico 2024-2025

Sommario

Introduzione	1
1. La gravidanza e l'unità feto-placentare.....	4
2. La Morte Endouterina fetale	9
3. Attività tecnico-operative del Tecnico di Laboratorio Biomedico nella MEF in relazione all'epoca gestazionale	17
4. Dati sulla Resa diagnostica	41
Conclusione.....	44
Bibliografia.....	46

Abstract

La morte endouterina fetale (MEF) rappresenta un evento drammatico che colpisce circa 2 milioni di famiglie ogni anno a livello globale. L'esame autoptico del feto e l'esame istologico della placenta costituiscono strumenti diagnostici essenziali per identificarne le cause e orientare la gestione delle gravidanze successive. In questo contesto, il Tecnico di Laboratorio Biomedico (TLB) svolge un ruolo molto importante in entrambe le procedure, garantendo l'accuratezza delle procedure istologiche e immunoistochimiche necessarie per la diagnosi. [1,2,3]

Il presente elaborato si propone di descrivere le competenze specialistiche del TLB nella gestione dei campioni anatomo-patologici provenienti da casi di MEF, mediante una revisione della letteratura scientifica internazionale sull'argomento, l'analisi delle linee guida e le normative vigenti.

L'analisi evidenzia che il TLB opera attraverso procedure complesse, durante l'esecuzione dell'autopsia e degli esami istologico con la fase preanalitica (accettazione, tracciabilità secondo SIAPEC-IAP, 2022), la processazione tissutale (fissazione adattata allo stato di conservazione, inclusione, microtomia), le tecniche avanzate (colorazioni speciali, immunoistochimica) e l'archiviazione. Le principali criticità operative identificate includono la gestione di tessuti autolitici, l'ottimizzazione delle tecniche su materiale degradato e il mantenimento della tracciabilità completa di ogni fase per finalità medico-legali. [4]

Il TLB rappresenta una figura molto importante nel percorso diagnostico della MEF, operando in stretta collaborazione con i medici patologi. Circa il 30-40% dei casi di MEF rimane inclassificato nonostante un protocollo completo, e l'accuratezza tecnica del TLB è determinante per massimizzare le possibilità diagnostiche, fornire risposte alle famiglie e orientare le future gravidanze.

Introduzione

La morte endouterina fetale (MEF) rappresenta un evento drammatico che interrompe il naturale corso della gravidanza, con forti implicazioni emotive, cliniche e sanitarie. Nonostante i progressi della medicina prenatale, la MEF continua a verificarsi con incidenza significativa a livello globale, colpendo circa due milioni di famiglie ogni anno in Italia e in Europa, nonostante i progressi della medicina perinatale. L'esame autoptico fetale e l'analisi placentare costituiscono strumenti diagnostici essenziali per identificare le cause della morte e orientare la gestione delle gravidanze successive.

L'identificazione delle cause di MEF è fondamentale per fornire spiegazioni alle famiglie, prevenire il rischio di ricorrenza in gravidanze successive e stabilire protocolli di sorveglianza ostetrica personalizzati.

L'esame autoptico fetale è associato allo studio della placenta. Insieme consentono di identificare alterazioni morfologiche e patologiche responsabili della MEF, fornendo risposte diagnostiche essenziali. Tuttavia, anche con protocolli completi, circa il 30-40% dei casi rimane senza causa identificata. ^[5,6]

In questo contesto diagnostico complesso e delicato, il Tecnico di Laboratorio Biomedico (TLB) riveste un ruolo molto importante. Grazie alle competenze tecniche e procedurali nell'esecuzione delle autopsie e nella gestione dei campioni anatomopatologici, il TLB rappresenta una figura importante all'interno del team diagnostico-multidisciplinare, garantendo qualità, accuratezza e tracciabilità in ogni fase del processo.

Nel presente elaborato si descrive il ruolo tecnico-professionale del TLB nell'ambito della diagnostica anatomo-patologica della MEF, con particolare attenzione alle procedure tecniche, alle competenze specialistiche richieste e alle criticità operative.

La tesi si articola attraverso le seguenti fasi:

1. La descrizione delle basi anatomiche e fisiologiche della gravidanza essenziali per comprendere i meccanismi fisiopatologici della MEF;
2. La definizione epidemiologica della MEF, sia a livello nazionale che internazionale, fornendo dati aggiornati sull'incidenza e i fattori di rischio;
3. La definizione del profilo professionale del TLB secondo la normativa vigente italiana, delineando le competenze, le responsabilità e gli ambiti di autonomia operativa nella gestione dei campioni anatomico-patologici;
4. La descrizione delle procedure operative di competenza del TLB, durante l'autopsia e l'esame istologico, partendo dall'accettazione dei campioni fino all'archiviazione. In particolare, saranno descritte la gestione preanalitica e tracciabilità, l'esame autoptico, il trasporto dei campioni prelevati in reparto per poter generare una diagnosi completa;
5. La valutazione del contributo del TLB all'accuratezza diagnostica e alle implicazioni per il counseling delle famiglie, sottolineando l'importanza della collaborazione multidisciplinare con patologi e clinici.
6. Analisi delle principali cause identificate attraverso l'esame anatomico-patologico.

Questa tesi si prefigge lo scopo di offrire una visione integrata e aggiornata delle procedure tecnico-diagnostiche applicate nella MEF, contribuendo al riconoscimento del valore professionale del TLB in questo ambito particolarmente delicato.

Il presente elaborato si configura come una descrizione basata sulla letteratura scientifica nazionale e internazionale, integrata con l'analisi delle principali linee guida e normative vigenti in materia di morte endouterina fetale e procedure anatomico-patologiche. L'approccio metodologico adottato ha privilegiato l'analisi delle fonti più autorevoli e aggiornate, con particolare attenzione a pubblicazioni scientifiche peer-reviewed, linee guida internazionali di società scientifiche, normative italiane ed europee e protocolli operativi standardizzati. Fornisce una panoramica completa e aggiornata, integrando le migliori evidenze disponibili

con l'analisi delle normative vigenti e dei protocolli internazionali più accreditati.

Normative Italiane:

- D.M. 26 settembre 1994, n. 745: profilo professionale del TLB ^[7]
- Legge 10 agosto 2000, n. 251: professioni sanitarie ^[8]
- Legge 2 febbraio 2006, n. 31: protocollo MEF - D.P.R. 10 settembre 1990, n. 285: regolamento di polizia mortuaria ^{[9][10]}
- Regolamento UE 2016/679 (GDPR): protezione dati ^[11]

Linee Guida Internazionali:

- PSANZ (Perinatal Society of Australia and New Zealand): Clinical Practice Guideline for Perinatal Mortality (2018-2019) ^[12]
- Royal College of Pathologists (UK): Guidelines on autopsy practice ^[13, 14]
- Fetal autopsy (2015-2017)
- SIAPEC-IAP (Società Italiana di Anatomia Patologica): Linee Guida sulla Tracciabilità (2022) ^[4]
- ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists): Management of Stillbirth (2020) ^[15]
- WHO (World Health Organization): definizioni e classificazioni della morte fetale ^[16]

1. La gravidanza e l'unità feto-placentare

La gravidanza si basa su un sistema biologico integrato definito unità feto-placentare, che comprende il feto in sviluppo, la placenta che funge da organo di scambio e interfaccia, il cordone ombelicale come via di comunicazione vascolare e le membrane amnio-coriali che delimitano la cavità amniotica contenente il liquido amniotico.

La circolazione fetale presenta caratteristiche uniche che la distinguono dalla circolazione postnatale, con shunt fisiologici che permettono di bypassare i polmoni non ancora funzionanti. Qualsiasi alterazione che comprometta la circolazione feto-placentare può rapidamente evolvere in: ipossia fetale e morte, interruzione del flusso nel cordone ombelicale, insufficienza placentare grave, anomalie cardiache strutturali o stati di anemia fetale severa.

Il sangue ossigenato proveniente dalla placenta attraverso la vena ombelicale raggiunge il fegato fetale, dove la maggior parte bypassa il fegato attraverso il dotto venoso di Aranto e raggiunge la vena cava inferiore; una porzione viene distribuita tramite i capillari epatici.

A livello atriale destro, il sangue viene parzialmente deviato attraverso il forame ovale verso l'atrio sinistro, bypassando la circolazione polmonare o indirizzato nel ventricolo destro. Il sangue del ventricolo destro viene pompato nell'arteria polmonare, ma la maggior parte bypassa i polmoni attraverso il dotto arterioso di Botallo, che connette l'arteria polmonare all'aorta discendente. Questa organizzazione garantisce che il sangue più ossigenato sia preferenzialmente diretto alla circolazione sistemica (cervello e miocardio fetale).

La placenta è un organo transitorio che si forma nelle prime settimane di gestazione e rappresenta l'interfaccia critica tra la circolazione materna e quella fetale. Dal punto di vista anatomico, la placenta a termine ha forma discoidale, diametro medio di 15-20 cm, spessore di 2-3 cm e peso compreso tra 400 e 600 grammi. È costituita da due componenti principali: derivante dal corion frondoso e caratterizzata dai villi coriali, e la porzione materna, rappresentata dalla decidua basale dell'endometrio. ^[17, 18]

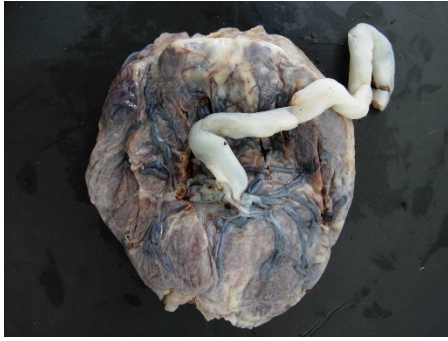


Figura 1. Visione macroscopica della superficie fetale della placenta con cordone ombelicale e vasi coriali



Figura 2. Esame macroscopico della superficie fetale della placenta a termine. Presenta pigmentazione giallo-verdastra, compatibile con l'inibizione meconiale.

I villi coriali, organizzati in cotiledoni, sono riccamente vascolarizzati e immersi negli spazi inter-villositari contenenti sangue materno proveniente dalle arterie spirali dell'utero. Il rivestimento epiteliale dei villi è composto da uno strato interno di cellule cuboidali (citotrofoblasto) e da uno strato esterno di cellule giganti multinucleate con ampio citoplasma (sinciziotrofoblasto).

La membrana placentare, pur separando le due circolazioni, consente gli scambi attraverso meccanismi di diffusione, trasporto attivo e pinocitosi.

La placenta svolge molteplici funzioni vitali. La funzione respiratoria garantisce gli scambi gassosi, con passaggio di ossigeno dalla circolazione materna al feto e di anidride carbonica in direzione opposta. La funzione nutritiva trasferisce al feto glucosio, aminoacidi, acidi grassi, vitamine, minerali e acqua necessari per la crescita e lo sviluppo. La funzione escretoria elimina i prodotti del metabolismo fetale, in particolare urea e creatinina. La funzione endocrina produce ormoni essenziali quali gonadotropina corionica umana (hCG), lattogeno placentare, progesterone ed estrogeni. La funzione immunologica protegge il feto da agenti patogeni materni e modula la risposta immunitaria materna per prevenire il rigetto del feto.

Alterazioni strutturali o funzionali della placenta rappresentano cause frequenti di morte endouterina fetale.

Sviluppo fetale per epoche gestazionali

Nel primo Trimestre (0-13 settimane) avviene l'organogenesi, con la formazione di tutti gli organi principali. Il periodo è caratterizzato da rapida crescita e differenziazione cellulare. Le MEF precoci sono frequentemente causate da anomalie cromosomiche gravi, difetti di impianto, infezioni o esposizioni a teratogeni.

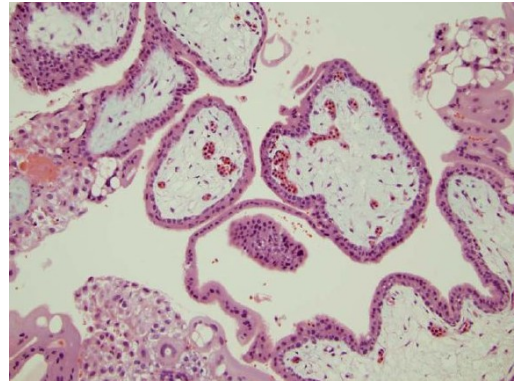


Figura 3. Aspetto istologico dei villi coriali nel primo trimestre gestazionali

Il secondo Trimestre (14-27 settimane) è il periodo di crescita e maturazione strutturale degli organi. I movimenti fetali diventano percepibili dalla madre. Si completa la formazione degli apparati respiratorio, digerente e nervoso, sebbene ancora immaturi funzionalmente. Le MEF in questa fase possono essere dovute a insufficienza cervicale, infezioni ascendenti, anomalie placentari o malformazioni congenite incompatibili con la vita.

Il terzo Trimestre (28 settimane- termine) corrisponde alla fase di maturazione funzionale e crescita ponderale. Il feto accumula tessuto adiposo, i polmoni maturano con produzione di surfattante e tutti gli organi si preparano alla vita extrauterina. ^[19]

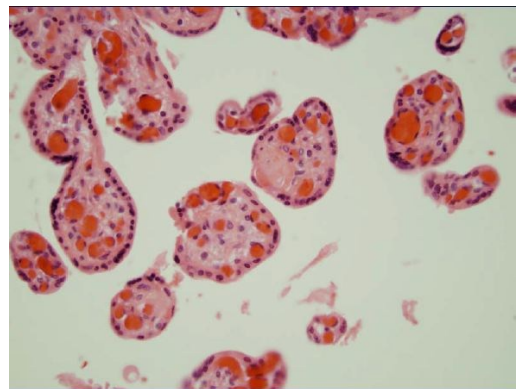


Figura 4. Aspetto istologico dei villi coriali nel terzo mese gestazionale

Le MEF tardive sono spesso correlate a complicanze acute come il distacco di placenta, le patologie ipertensive materne, il diabete mal controllato, le infezioni o le complicanze del cordone ombelicale.

La madre subisce importanti adattamenti durante la gravidanza in tutti i sistemi materni per supportare lo sviluppo fetale.

Nel sistema Cardiovascolare, durante la gravidanza si verifica un aumento del volume plasmatico e della gittata cardiaca, una riduzione delle resistenze vascolari periferiche e delle modificazioni della pressione arteriosa. L'inadeguato adattamento cardiovascolare o la presenza di patologie ipertensive, come la preeclampsia, possono compromettere la perfusione placentare.

Nel sistema Ematopoietico, si osserva un aumento della produzione eritrocitaria, ipercoagulabilità, modificazioni dei fattori della coagulazione e un'anemia diluizionale fisiologica. Queste alterazioni, se eccessive o associate a trombofilie, possono causare trombosi placentare e insufficienza placentare.

Nel sistema Endocrino-Metabolico, la gravidanza determina un aumento del metabolismo basale, modificazioni della funzione tiroidea con un'insulino-resistenza progressiva. Il diabete gestazionale mal controllato è un importante fattore di rischio per MEF, così come le patologie tiroidee non compensate.

Nel sistema Immunitario, si verifica una modulazione della risposta immunitaria per tollerare il feto che presenta un'antigenicità differente (semi-allogenico). Alterazioni di questo equilibrio, come nelle patologie autoimmuni (sindrome da anticorpi antifosfolipidi, lupus eritematoso sistemico), possono causare danno vascolare placentare e morte fetale.

Nella placenta, il cordone ombelicale, o funicolo, costituisce il collegamento vascolare tra il feto e la placenta. La sua lunghezza media a termine è di 50-60 cm, con un diametro di circa 1-2 cm. È rivestito da amnios e contiene la gelatina di Wharton, un tessuto connettivo mucoso che protegge i vasi sanguigni. Presenta tre vasi principali: due arterie ombelicali che trasportano sangue deossigenato e ricco di cataboliti dal feto alla placenta; una vena ombelicale che riporta al feto sangue ossigenato e ricco di nutrienti dalla placenta. Le arterie ombelicali originano dalle arterie iliache interne del feto e presentano una caratteristica spiralizzazione che conferisce elasticità al cordone e previene la compressione dei vasi durante i movimenti fetali.

L'amnios e il corion costituiscono l'involucro che delimita la cavità amniotica. L'amnios, membrana più interna a diretto contatto con il liquido amniotico, è una struttura avascolare, trasparente e resistente. Il corion, più esterno, aderisce alla decidua uterina e presenta maggiore spessore.

Il liquido amniotico è un fluido biologico dinamico essenziale per lo sviluppo fetale normale. Il suo volume aumenta progressivamente durante la gravidanza, raggiungendo circa 800-1000 ml intorno alle 36 settimane. Questo liquido svolge funzioni protettive meccaniche contro traumi esterni, consente i movimenti fetali favorendo lo sviluppo muscolo-scheletrico, mantiene temperatura e ambiente sterile, contribuisce allo sviluppo polmonare e fornisce informazioni diagnostiche sulla maturità e salute fetale. Alterazioni del volume di liquido amniotico (oligoidramnios o polidramnios) sono frequentemente associate a patologie fetali, placentari o materne e possono essere indicatori di aumentato rischio di MEF. ^[20, 21]

2. La Morte Endouterina fetale

La MEF si definisce come la morte del feto avvenuta prima dell'espulsione o estrazione completa dal corpo materno, indipendentemente dalla durata della gravidanza, quando non sono presenti segni di vita (battito cardiaco, respirazione, movimenti muscolari volontari). La morte endouterina fetale (MEF) è quindi definita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) come la cessazione permanente di tutte le funzioni vitali del feto prima dell'espulsione completa dal corpo materno, indipendentemente dalla durata della gravidanza, purché l'evento si verifichi dopo un determinato limite di età gestazionale o di peso. Secondo i criteri più diffusi, la MEF è diagnosticata quando la morte si verifica a partire dalla 22^a settimana di gestazione (o quando il peso fetale è pari o superiore a 500 grammi), in assenza di segni vitali quali battito cardiaco, respirazione o movimenti muscolari volontari. ^{[22][16]}

L'interruzione di gravidanza viene comunemente classificata in base all'epoca gestazionale:

- **Precoce:** prima della 22^a settimana - correlata a cause congenite gravi, anomalie cromosomiche, infezioni intrauterine o patologie materne non compensate
- **Intermedia:** tra la 22^a e la 28^a settimana - cause includono complicanze placentari, disturbi ipertensivi, diabete gestazionale e infezioni tardive
- **Tardiva:** dopo la 28^a settimana - incidenti di cordone, distacco di placenta, insufficienza placentare, complicanze intraparto

Per epoca gestazionale si riconosce una MEF precoce o aborto spontaneo (<22 settimane). Le cause sono anomalie cromosomiche gravi, difetti di impianto, infezioni embriopatiche ed esposizione a teratogeni. La MEF intermedia (22-28 settimane) è in genere dovuta a complicanze placentari, disturbi ipertensivi (preeclampsia), diabete gestazionale e infezioni tardive. Infine, la MEF tardiva (>28 settimane, soprattutto >37) è

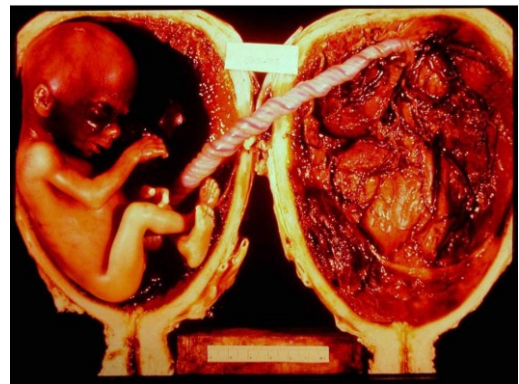


Figura 5. Morte Endouterina fetale durante il secondo trimestre gestazionale

causata da incidenti di cordone, distacco di placenta, insufficienza placentare e complicanze intrapartum.

Come riportato nello studio di Smith e Fretts, la distribuzione delle morti fetali varia in relazione all'epoca gestazionale: la percentuale più elevata di casi si osserva tra 15 e 19 settimane di gestazione (42,42%), mentre la frequenza più bassa si registra tra 35 e 39 settimane (6,06%), evidenziando una maggiore incidenza nelle fasi più precoci del secondo trimestre. [23]

L'analisi della letteratura ha permesso di identificare la distribuzione percentuale delle principali cause di morte endouterina fetale, come sintetizzato nella Tabella 1.

Tabella 1. Distribuzione delle principali cause di Morte Endouterina Fetale.

Categoria	Percentuale	Sottotipi principali	Importanza diagnostica
Cause placentari	28-46%	MVM (Malperfusion vascolare materna), distacco, trombosi, infarti	Esame istologico essenziale
Cause fetali	25-45%	Malformazioni, anomalie cromosomiche, IUGR (restrizione di crescita intrauterina)	Autopsia e genetica
Cause infettive	10-25%	Corioamnionite, infezioni congenite	IHC e colture
Ipertensione /preeclampsia	~24%	Forma materna più comune	Correlazione clinica
Cause del cordone	10-15%	Nodi, torsione, trombosi	Esame macroscopico cruciale
Altre cause materne	12-24%	Diabete, trombofilie, autoimmuni	Screening materno
Inspiegati	28-40%	Nessuna causa identificabile	Limiti diagnostici attuali

È importante notare che in molti casi possono coesistere multiple cause contributive. La percentuale elevata di casi inspiegati (28-40%) sottolinea l'importanza di applicare protocolli diagnostici completi e standardizzati, nonché la necessità di preservare materiale biologico per eventuali analisi future con tecnologie emergenti. [24, 25]

Dati Epidemiologici sulla Morte Endouterina Fetale

L'analisi della letteratura indica che la morte endouterina fetale (MEF) rappresenta ancora un problema sanitario rilevante a livello globale. Nel 2019 si sono verificati globalmente circa 2,0 milioni di nati morti (intervallo di incertezza 90%: 1,9-2,2 milioni) a 28 o più settimane di gestazione, con un tasso di mortalità di 13,9 nati morti per 1.000 nascite totali (90% UI: 13,5-15,4). [3]

La distribuzione geografica presenta marcate disparità tra le varie aree geografiche:

- Africa occidentale e centrale: 22,8 per 1.000 nascite (tasso più alto)
- Africa orientale e meridionale: 20,5 per 1.000 nascite
- Asia meridionale: 18,2 per 1.000 nascite
- Europa occidentale: 2,9 per 1.000 nascite (tasso più basso)
- Nord America: 3,0 per 1.000 nascite

Circa il 76% dei nati morti globali si concentra in tre regioni: Asia meridionale (33,1%), Africa occidentale e centrale (23,7%) e Africa orientale e meridionale (19,8%). I dati sono riportati nella tabella 2.

Tabella 2. Tassi di natimortalità per regione geografica (2019). I valori rappresentano stime con intervallo di incertezza 90%

Regione	Tasso (per 1000 nascite)	Numero stimato di nati morti	% del totale globale
Africa Occidentale e Centrale	22.8	~ 474.000	23.7%
Africa Orientale e Meridionale	20.5	~ 396.000	19.8%
Asia Meridionale	18.2	~ 662.000	33.1%
Asia Orientale e Pacifico	8.5	~ 255.000	12.8%
America latina e Caraibi	7.4	~ 74.000	3.7%
Nord America	3.0	~ 12.000	0.6%
Europa Occidentale	2.9	~ 11.000	0.5%
Media globale	13.9	~ 2.000.000	100%

La Tabella 2 riassume la distribuzione geografica dei tassi di natimortalità a livello globale, evidenziando le marcate disparità tra regioni ad alto e basso reddito. Questi dati riflettono marcate disparità nell'accesso alle cure prenatali e nella qualità dell'assistenza ostetrica. Le Questi dati evidenziano che oltre il 76% dei nati morti regioni ad alto reddito (Europa occidentale, Nord America) presentano tassi significativamente inferiori, con valori compresi tra 2,9 e 3,0 per 1.000 nascite, circa 7-8 volte più bassi rispetto alle regioni più colpite.

Un'analisi dettagliata dei progressi regionali (Tabella 3) evidenzia marcate disparità anche nel tasso di miglioramento.

Tabella 3. Tasso di riduzione annuale di Natimortalità per regione (2000-2019).

Regione	Riduzione annuale (%)	Variazione 2000-2019	Obiettivo SDG 2030
Europa Occidentale	3.4%	-1.2 per 1.000	Raggiungibile
Nord America	2.8%	-0.9 per 1000	Raggiungibile
Asia Orientale e Pacifico	3.1%	-3.5 per 1.000	Parzialmente raggiungibile
America latina e Caraibi	2.5%	-2.1 per 1000	Parzialmente Raggiungibile
Asia Meridionale	2.2%	-5.8 per 1.000	Difficilmente Raggiungibile
Africa Orientale e Meridionale	1.9%	-4.3 per 1.000	Difficilmente Raggiungibile
Africa Occidentale e Centrale	1.5%	-3.7 per 1000	Difficilmente Raggiungibile
Media globale	2.3%	-3.9 per 1.000	Parzialmente Raggiungibile

L'obiettivo della SDG (Sustainable Development Goal) per il 2030 è di ridurre la natimortalità a ≤ 12 per 1.000 nascite in tutti i paesi. ^[26] Le regioni ad alto reddito mostrano tassi di riduzione più elevati (2,8-3,4% annuo), mentre le regioni con i tassi iniziali più alti (Africa subsahariana) presentano progressi più lenti (1,5-1,9% annuo). Se queste tendenze continueranno, le regioni a basso reddito non raggiungeranno gli obiettivi di sviluppo sostenibile (SDG) per il 2030, che prevedono una riduzione della natimortalità a ≤ 12 per 1.000 nascite in tutti i paesi. Il tasso globale di riduzione annuale della mortalità fetale nel periodo 2000-2019 è stato stimato al 2,3% (90% UI: 1,7-2,7%), significativamente inferiore rispetto alla riduzione della mortalità neonatale (2,9%) e della mortalità sotto i 5 anni (4,3%). Questa "stagnazione relativa" nella riduzione della MEF evidenzia che esiste un "plateau diagnostico" in cui circa il 30-40% delle MEF rimane inspiegato anche dopo un protocollo completo; di fatto, le cause di MEF sono spesso multifattoriali e complesse, non sempre prevenibili con le attuali strategie di sorveglianza ostetrica; inoltre, la MEF riceve meno

attenzione nella ricerca e nelle politiche sanitarie rispetto una mortalità infantile e neonatale.

L'analisi della letteratura ha identificato diversi fattori che contribuiscono alla persistenza di tassi elevati di MEF nelle regioni a basso reddito. Esse consistono nel limitato accesso alle cure prenatali. In Africa subsahariana e Asia meridionale, circa il 40-60% delle donne gravide non riceve un numero adeguato di visite prenatali (almeno 4 visite secondo le precedenti raccomandazioni WHO, ora riviste a 8 contatti prenatali).

Inoltre, manca il personale sanitario qualificato. Il rapporto tra ostetriche e la popolazione è significativamente inferiore agli standard WHO nelle regioni più colpite, con conseguente impossibilità di identificare tempestivamente gravidanze a rischio. Le strutture sanitarie sono spesso inadeguate. Mancano servizi di diagnostica prenatale (ecografia, cardiocografia), laboratori per screening infettivi e strutture per assistenza al parto in emergenza. Incidono anche problemi di tracciabilità e registrazione. In molti paesi a basso reddito, la maggior parte dei nati morti non viene registrata ufficialmente, impedendo una corretta valutazione epidemiologica e pianificazione degli interventi. Hanno una importanza non meno rilevante alcune barriere culturali ed economiche, come i costi delle cure prenatali, distanza dalle strutture sanitarie, e credenze culturali che scoraggiano l'accesso ai servizi sanitari. ^[2]

In Europa, secondo i dati Euro-Peristat 2015, i tassi di natimortalità variano considerevolmente tra i paesi, riflettendo differenze nei sistemi sanitari, nelle definizioni utilizzate e nella qualità della registrazione: ^[27]

Paesi con tassi più bassi ($\leq 2,5$ per 1.000 nascite):

- Finlandia: 2,0‰
- Repubblica Ceca: 2,4‰
- Austria: 2,5‰
- Germania: 2,6‰
- Portogallo: 2,7‰

Paesi con tassi intermedi (2,9-3,9 per 1.000 nascite):

- Belgio (Fiandre): 2,9‰
- Norvegia: 2,9‰
- Svezia: 3,2‰
- Italia: 3,7‰
- Polonia: 3,8‰

Paesi con tassi più elevati ($\geq 4,0$ per 1.000 nascite):

- Inghilterra e Galles: 4,0‰
- Paesi Bassi: 4,3‰
- Irlanda: 4,3‰
- Francia: 4,9‰

Nel periodo 2004-2010, l'Europa ha registrato un declino del 17% (95% CI: 10-23%) nel tasso di natimortalità, con variazioni tra i singoli paesi che vanno dall'1% al 39%. Questo miglioramento è stato osservato in particolare nei paesi con tassi inizialmente più elevati.

Un'analisi delle tendenze di natimortalità in 25 paesi europei nel periodo 2010-2021 ha evidenziato una riduzione significativa dei tassi in Estonia, Lituania, Norvegia, Polonia, Spagna, Svezia, mentre un aumento è stato osservato in Germania e Belgio.

Le variazioni nella struttura dell'età materna hanno contribuito alle variazioni dei tassi: l'aumento della prevalenza di gravidanze in età materna avanzata (≥ 35 anni) ha contribuito a un aumento dei tassi di natimortalità fino a 0,85 per 1.000 nascite in Cipro. ^[28]

In Italia, secondo i dati più recenti disponibili, il tasso di natimortalità è pari a circa 3,7 per 1.000 nascite totali (dati Euro-Peristat 2015). Uno studio specifico condotto in Emilia-Romagna (2014-2021) su 246.437 nascite a ≥ 37 settimane ha riportato 260 morti fetali, corrispondenti a un tasso di 1,06 per 1.000 nascite a termine. ^[29]

L'Italia presenta alcune criticità:

- Nel 26% dei casi non è registrato il valore del peso alla nascita nei casi di natimortalità (uno dei tassi più alti in Europa)
- Esistono differenze tra i dati riportati a Eurostat e quelli riportati a Euro-Peristat, dovute all'utilizzo di fonti diverse
- Variabilità nella completezza dei dati tra diverse regioni

L'Italia presenta alcune criticità relative alla registrazione. Nel 26% dei casi non è registrato il valore del peso alla nascita nei casi di natimortalità (uno dei tassi più alti in Europa) Esistono differenze tra i dati riportati a Eurostat e quelli riportati a Euro-Peristat, dovute all'utilizzo di fonti diverse. Infine, esiste una estrema variabilità nella completezza dei dati tra diverse regioni.

Uno studio di coorte, effettuato in Emilia-Romagna ha identificato come fattori di rischio indipendenti per MEF a termine i seguenti fattori: un difetto di crescita piccoli per l'età gestazionale (SGA): OR (rapporto di probabilità) 2,47 ($P < 0,001$), una gravidanza ottenuta con trattamenti di fertilità: OR 1,99 ($P = 0,014$), il sovrappeso materno pregravidico: OR 1,35 ($P = 0,023$), un accesso ritardato alle cure prenatali: OR 1,63 ($P = 0,004$) ed infine una storia di precedente natimortalità: OR 3,51 ($P = 0,001$).

3. Attività tecnico-operative del Tecnico di Laboratorio Biomedico nella MEF in relazione all'epoca gestazionale

Nello studio della Morte Endouterina Fetale, il servizio di Anatomia Patologica rappresenta un punto di riferimento fondamentale per l'analisi morfologica e istopatologica dei campioni fetali e placentari al fine di identificare le cause dell'evento infausto. Vanno pertanto descritte le attività tecniche svolte dai servizi di Anatomia patologica sia nei laboratori che nella sala settoria. Si riportano come semplificative le esperienze della struttura SOD di Anatomia patologica del l'Azienda Ospedaliero-Universitaria delle Marche, che rappresenta il centro regionale di riferimento per lo studio delle morti endouterine fetali.

La disponibilità di strutture avanzate e di personale altamente qualificato in questo centro rappresenta un elemento fondamentale per l'ottimizzazione del processo diagnostico e per assicurare un'assistenza adeguata alle famiglie coinvolte.

La tipologia di campione che giunge al laboratorio varia in relazione all'epoca gestazionale e alla situazione clinica. Nei casi di aborto prematuro, il materiale inviato è costituito dai prodotti del concepimento o residui ovarici eliminati normalmente o estratti durante l'aborto spontaneo. Tali campioni sono trattati come materiale istologico nel reparto di Anatomia Patologica.

In epoche gestazionali più avanzate possono essere inviati feto, placenta e cordone ombelicale per un esame anatomo-patologico più approfondito.

L'analisi della causa della morte del feto di età gestazionale avanzata prevede l'esecuzione di una autopsia fetale completa, che viene effettuata in sala settoria dal medico patologo con la collaborazione del Tecnico di Laboratorio Biomedico.

Il TLB opera in un ambito particolarmente delicato che richiede non solo competenze tecniche avanzate, ma anche la sensibilità richiesta nella gestione dei campioni che rappresentano per le famiglie coinvolte un evento drammatico. La corretta gestione dei campioni, l'applicazione rigorosa dei protocolli e l'attenzione ai dettagli tecnici sono elementi essenziali per garantire una diagnosi accurata e fornire risposte ai genitori e ai clinici.

Il rapporto tra TLB e patologo è caratterizzato da una stretta collaborazione: il patologo è responsabile della diagnosi e dell'interpretazione clinico-patologica, mentre il TLB garantisce la corretta esecuzione delle procedure tecniche. Dal punto di vista operativo, il TLB nel reparto di Anatomia Patologica assiste il patologo durante tutte le fasi che portano alla diagnosi.

Nella fase di accettazione, il TLB conferma l'idoneità del campione e la completezza della documentazione annessa. Nella fase di campionamento registra le osservazioni macroscopiche rilevate dal patologo. Durante l'autopsia assiste nelle procedure di eviscerazione e successivo campionamento con generazione delle bio-cassette. Inoltre, prepara i vetrini che verranno esaminati dal patologo al microscopio, il quale potrà richiedere ulteriori colorazioni speciali o indagini di immunoistochimica in base ai reperti osservati e alla propria valutazione diagnostica.

Il processo diagnostico inizia con l'arrivo del materiale biologico nel laboratorio o in sala settoria. Nel caso della MEF, i campioni includono tipicamente

- Feto: corpo intero sottoposto a riscontro; in questi casi alcuni frammenti sono prelevati durante l'autopsia e sottoposti ad esame istologico
- Placenta ed annessi
- Tessuti materni: occasionalmente, biopsie di endometrio o altre strutture

Il TLB è responsabile della verifica della documentazione accompagnatoria, che deve includere la richiesta di esame anatomo-patologico o di riscontro autoptico compilata e firmata dal medico richiedente, il consenso informato dei genitori all'esecuzione dell'esame autoptico, e i dati anagrafici completi della madre. Devono essere riportati dati clinici essenziali: settimane di gestazione, modalità diagnostica della MEF, anamnesi ostetrica, l'eventuale sospetto diagnostico o quesito clinico specifico (check list in caso di MEF), l'esame esterno del cadavere, la data e l'ora del parto/espulsione e attestazione di avvenuta nascita, il certificato medico di nato morto e il certificato di visita necroscopica e la modalità di conservazione e trasporto del campione.

La tracciabilità è un elemento fondamentale che il TLB deve garantire sin dal momento dell'accettazione. Secondo le linee guida SIAPEC-IAP sulla tracciabilità dei campioni anatomo-patologici, ogni campione deve essere identificato univocamente mediante un numero di protocollo progressivo annuale assegnato al momento dell'accettazione (con sigla "A" per i riscontri autoptici e "I" per esami istologici). Su tutti i contenitori (placenta, organi, cassette istologiche, vetrini) devono essere poste etichette identificative. I campioni sono collegati a codici a barre quando disponibili nel sistema informatico di laboratorio. È disponibile un registro cartaceo e/o informatico con registrazione della data e ora di arrivo, provenienza, tipo di campione, dati del paziente e medico richiedente. [4]

Per i campioni relativi a MEF, data la potenziale rilevanza medico-legale, è particolarmente importante documentare lo stato del campione alla ricezione, la sua integrità, presenza di fissativo e temperatura. Il TLB è attento alla catena di custodia: chi ha consegnato il campione, chi lo ha ricevuto, e l'eventuale refrigerazione durante il trasporto. Ogni anomalia o criticità viene segnalata (un campione non refrigerato, una documentazione incompleta, e i segni di deterioramento avanzato).

I campioni provenienti da MEF possono presentare rischi biologici specifici legati ad agenti infettivi: batteri, virus, funghi potenzialmente coinvolti nella morte fetale. L'autolisi avanzata: con rilascio di sostanze putrefattive e carica batterica elevata.

Il TLB in sala settoria deve operare applicando rigorosamente le precauzioni standard e le precauzioni per la trasmissione per via aerea, droplet e contatto, quando indicate. Ciò include l'utilizzo di Dispositivi di Protezione Individuale (DPI) appropriati come un camice monouso impermeabile, guanti doppi (lattice o nitrile), una mascherina FFP2 o FFP3 in caso di campioni fortemente autolitici. Una visiera o occhiali protettivi, calzari se necessario.

La valutazione preliminare ed esame esterno del feto durante il riscontro autoptico è il primo step.

Il TLB, in collaborazione con il patologo, effettua una valutazione preliminare macroscopica che consente di valutare lo stato di conservazione del feto (grado di macerazione e autolisi); identificare eventuali anomalie macroscopiche evidenti (malformazioni, idrope fetale,

anomalie placentari); stabilire la priorità di processazione, in quanto i tessuti molto autolitici richiedono fissazione immediata e prolungata, e pianificare il protocollo di campionamento più appropriato.

Inizialmente viene stabilito se si tratta di un feto nato vivo o morto; se nato morto, si stima l'intervallo post-mortem o se la morte è stata provocata o accidentale; se è nato vivo, quanto tempo ha vissuto nella vita intrauterina.

Nell'esame esterno si prendono in considerazione il peso, la lunghezza, le circonferenze, l'aspetto della cute, la vernice caseosa, lo stato dei peli e delle unghie (se già presenti), il cordone ombelicale e la conformazione dei genitali esterni. Viene osservato per intero il feto, quindi tutto il viso (palpebre e bulbi oculari, naso, cavo orale), collo, torace e addome.

Oltre al feto, si osserva anche la placenta.

Il grado di macerazione fetale viene classificato secondo la scala di Genest: ^[30]

- Grado I (precoce): cute integra con leggera desquamazione superficiale
- Grado II (moderata): desquamazione cutanea diffusa, bolle subepidermiche
- Grado III (avanzata): cute completamente desquamata, collasso delle strutture, aspetto "mummificato"

Per eseguire l'esame interno degli organi e dei visceri fetali è necessario procedere inizialmente all'apertura delle cavità toracica e addominale, seguita da un'attenta ispezione macroscopica delle strutture esposte.

L'apertura della cavità addominale nel feto presenta alcune differenze rispetto a quella eseguita nell'adulto. Durante l'incisione della parete addominale, giunti lungo la linea xifopubica in prossimità dell'ombelico, si eseguono due incisioni divergenti che raggiungono rispettivamente la metà dell'arcata pelvica destra e sinistra. Questa modalità di accesso consente di preservare i vasi ombelicali, i vasi ipogastrici e l'uraco, che potranno essere successivamente osservati ritraendo inferiormente il lembo cutaneo ottenuto (tecnica a Y rovesciata).

Successivamente, mediante bisturi, la parete addominale viene scollata dalla gabbia toracica per consentire una migliore esposizione delle strutture sottostanti. Una volta esposto il piastrone sternale, si procede alla sezione dei muscoli sternocleidomastoidei a livello delle loro inserzioni inferiori, al fine di consentire la disarticolazione delle clavicole. Le clavicole vengono quindi sollevate per permettere una migliore visualizzazione dell'interlinea articolare; mediante bisturi si penetra nell'articolazione sterno-clavicolare dopo aver inciso la capsula periarticolare. Durante questa manovra è necessario prestare attenzione per evitare di lesionare il tronco venoso brachio- cefalico situato posteriormente.

Successivamente vengono recisi i legamenti costo-clavicolari e le restanti inserzioni muscolari. Il taglio delle cartilagini costali può essere eseguito con forbici o bisturi, considerando che nel feto le strutture ossee presentano una consistenza inferiore rispetto a quelle adulte. Si procede quindi al sollevamento di un angolo del piastrone sternale e alla sezione lungo la linea di inserzione del diaframma, avanzando progressivamente in direzione craniale fino all'asportazione completa della parete toracica.

Una volta esposti gli organi interni, si procede alla valutazione dell'eventuale presenza di versamenti nelle cavità sierose, dei quali devono essere registrate e misurate la quantità e le caratteristiche. Vengono inoltre osservate le superfici sierose e lo stato di conservazione dei visceri.

Si parte con l'analisi degli organi toracici.

La prima struttura ad essere esaminata è il timo, che viene delicatamente scollato dal pericardio sottostante; successivamente viene pesato e sottoposto a sezioni trasversali per la sua valutazione macroscopica.

Particolare attenzione deve essere posta nell'esame dei vasi arteriosi e venosi, considerando la frequente presenza di anomalie congenite del cuore e dei grossi vasi nel periodo fetale. In questa fase vengono valutati il tronco brachiocefalico, la disposizione dell'aorta, la suddivisione dei principali rami arteriosi e la presenza del dotto arterioso (dotto di Botallo).

Per migliorare la visualizzazione delle strutture cardiache, il pericardio viene alzato delicatamente con una pinza chirurgica e inciso un occhiello con forbici o bisturi, dopo

averne preliminarmente valutato il colorito, la forma e il volume. L'incisione iniziale viene estesa superiormente fino alla riflessione del pericardio sui grossi vasi, inferiormente verso l'apice del cuore e lateralmente verso il ventricolo destro; considerate le ridotte dimensioni delle strutture fetali, le incisioni devono essere precise e limitate. Qualora sia presente del liquido all'interno della cavità pericardica (siero, sangue o pus), questo deve essere aspirato, raccolto e quantificato prima di procedere.

Successivamente l'incisione viene ampliata ribaltando i lembi del pericardio per esporre completamente la superficie esterna del cuore (epicardio). Dopo l'apertura del pericardio si procede alla valutazione dell'origine dell'aorta e dell'arteria polmonare, nonché del decorso delle vene cave superiore e inferiore e delle vene polmonari.

Mediante uno specillo è possibile verificare la presenza e l'eventuale pervietà del dotto arterioso di Botallo e individuare eventuali comunicazioni patologiche interatriali o interventricolari. L'asportazione del cuore avviene recidendo i grossi vasi: vena cava inferiore, vene polmonari sinistra e destra, vena cava superiore, aorta e arteria polmonare.

È buona norma effettuare l'estrazione in blocco dei visceri toracici comprendenti cuore e polmoni in modo da poter analizzare adeguatamente e preservare i rapporti vascolari tra le diverse strutture.

L'esame dei polmoni prevede la valutazione di forma, volume, peso e dell'aspetto esterno, seguita da un'accurata palpazione finalizzata a rilevare eventuali variazioni di consistenza o la presenza di calcificazioni.

I bronchi vengono aperti lungo le loro principali diramazioni per esaminare l'aspetto della mucosa bronchiale, delle cartilagini e il calibro delle vie aeree. Successivamente il tessuto polmonare viene campionato e inserito in bio-cassette numerate per le successive analisi istologiche.

Dal punto di vista macroscopico, i polmoni non espansi presentano generalmente una colorazione grigiastra, non crepitano alla palpazione, risultano leggermente aumentati di consistenza e non ricoprono la superficie del pericardio.

Nel caso in cui la morte fetale sia avvenuta per asfissia, i polmoni possono apparire di colore rosso scuro, con presenza di punteggiature emorragiche sottopleuriche e marcata congestione ematica. Al contrario, i polmoni ben espansi presentano generalmente una colorazione rosa pallido.

L'accertamento della vitalità al momento della nascita è un passaggio cruciale finalizzato a distinguere un decesso avvenuto in utero e una morte neonatale precoce. L'approccio diagnostico si basa sulla Docimasia Idrostatica polmonare (test di Galeno), immergendo l'organo in un recipiente contenente acqua. I polmoni fetali che non hanno mai compiuto atti respiratori presentano un'atelettasia fisiologica, con peso specifico superiore a quello dell'acqua e ne causa l'affondamento. Al contrario, l'instaurarsi della respirazione extrauterina riduce drasticamente il peso per l'ingresso d'aria negli alveoli, conferendo galleggiabilità all'organo.

L'ispezione del cavo peritoneale e dei visceri addominali comprende la valutazione del contenuto, dell'aspetto esterno dei visceri, la loro sede anatomica, la presenza di aderenze o ernie e lo stato del peritoneo parietale. Viene inoltre controllato il sito viscerale verificando la corretta disposizione delle anse intestinali ed escludendo la presenza di rotazioni anomale (volvolo) o difetti della parete addominale. Prima della rimozione l'intestino viene osservato nella sua sede anatomica.

L'analisi dell'intestino nel feto richiede una manipolazione estremamente delicata a causa della ridotta consistenza dei tessuti, specialmente nei casi di morte endouterina con fenomeni macerativi.

Vengono valutati il sito viscerale con la corretta disposizione delle anse intestinali; l'integrità della parete intestinale; il contenuto intestinale (può essere presente meconio, che appare di colorito scuro e viscoso; l'assenza di meconio o un aspetto "a tappo" può suggerire fibrosi cistica oppure atresia); anomalie congenite come atresie oppure stenosi.

Prima di asportare i visceri addominali è necessaria l'osservazione delle arterie e vene ombelicali, il dotto di Aranzio (vaso essenziale della circolazione fetale che collega direttamente la vena ombelicale alla vena cava inferiore).

Bisogna anche esaminare la retrocavità della borsa omentale quasi totalmente isolata dal resto della cavità addominale. Viene esaminata sollevando il margine inferiore del fegato e osservando il forame epiploico, per evidenziare l'eventuale presenza di liquidi o gas.

La tecnica d'elezione per l'eviscerazione è quella in blocco secondo Letulle: si procede recidendo le inserzioni del mesentere lungo la colonna vertebrale mantenendo l'intestino unito allo stomaco e al blocco epato-pancreatico, preservando i rapporti vascolari dell'arteria mesenterica superiore. L'intestino viene isolato recidendo l'esofago distale e retto. Una volta estratto il blocco l'intestino verrà separato dal retroperitoneo e dal mesentere tagliando vicino alla parete intestinale, permettendo lo "srotolamento" delle anse per misurarne la lunghezza totale.

Nel feto l'intestino non viene quasi mai estratto isolatamente nelle fasi iniziali, poiché il peduncolo vascolare è molto piccolo e fragile; una separazione in situ potrebbe compromettere i rapporti anatomici necessari per identificare eventuali malrotazioni intestinali.

Per il campionamento si eseguono piccoli segmenti cilindrici (anelli) di circa 1 cm, che permettono al patologo l'osservazione al microscopio l'intera circonferenza intestinale.

Durante l'eviscerazione e nell'osservazione degli organi, possono emergere alcune caratteristiche anatomiche proprie del periodo fetale: il fegato e le ghiandole surrenali risultano proporzionalmente più voluminosi che all'adulto; lo stomaco assume una disposizione perpendicolare per cui la piccola e grande curva non sempre sono ben distinguibili; l'appendice è sempre molto sviluppata.

La asportazione della milza può precedere quella degli altri visceri addominali. Dopo averne constatato la posizione e i rapporti anatomici, l'organo viene mobilizzato verso la linea mediana per mettere in evidenza l'ilo splenico, le vene gastriche brevi, la faccia posteriore della coda e del corpo del pancreas.

È possibile seguire il decorso dell'arteria e della vena splenica, che vengono accuratamente aperte per osservarne lo stato della parete e il contenuto.

Per l'asportazione vengono sezionati i vasi all'ilo splenico ed i legamenti gastrolienale e splenorenale; successivamente si valutano colorito, forma, volume, consistenza e peso dell'organo. La milza può essere sezionata mediante tagli longitudinali da un polo all'altro.

Il pancreas fetale si presenta come una struttura di piccole dimensioni, allungata con un colorito bianco-rosaceo o grigiastro, situata in posizione retroperitoneale, con aspetto lobulato.

È importante considerare che il pancreas è particolarmente suscettibile ai fenomeni di autolisi post-mortem, dovuti all'azione di enzimi pancreatici; pertanto, alcune modificazioni strutturali osservate devono essere interpretate con cautela, distinguendo i fenomeni autolitici dalle reali alterazioni patologiche.

Per l'esame macroscopico, si esegue un taglio longitudinale lungo l'asse maggiore dell'organo, dalla testa alla coda, seguito da ulteriori sezioni trasversali all'asse. Può essere inoltre esaminato il decorso dei principali dotti pancreatici mediante l'uso di uno specillo.

L'esame dei reni riveste un ruolo importante nella valutazione di eventuali anomalie dello sviluppo dell'apparato urinario, nonché nell'identificazione di condizioni patologiche che possono aver contribuito alla morte endouterina fetale. Le anomalie renali sono una componente significativa delle malformazioni congenite e possono essere associate a sindromi genetiche o a disordini dello sviluppo embrionale.

Durante l'autopsia i reni vengono inizialmente valutati in situ, osservandone la posizione anatomica, i rapporti con le strutture circostanti e l'eventuale presenza di anomalie di numero o di sede, quali agenesia, ipoplasia o ectopia renale.

Successivamente i reni vengono rimossi insieme ai segmenti prossimali degli ureteri. Vengono quindi registrati peso, dimensioni e morfologia dell'organo, valutando attentamente la superficie esterna per evidenziare eventuali irregolarità, cisti, aree fibrotiche o alterazioni di colore.

La dissezione viene eseguita mediante una sezione longitudinale lungo l'asse maggiore dell'organo, al fine di esporre le strutture interne e valutare la distinzione tra corticale e midollare e lo sviluppo delle piramidi renali. Nel rene fetale la differenziazione cortico-midollare può risultare meno evidente rispetto all'adulto, poiché il processo di maturazione del parenchima renale non è ancora completamente sviluppato.

Per l'analisi istologica vengono prelevati campioni rappresentativi di parenchima renale che includano sia la corticale sia la midollare.

Nell'analisi dell'encefalo, bisogna prestare molta attenzione, in quanto l'organo risulta molto molle. Si apre la calotta cranica generando un occhiello in corrispondenza della fontanella anteriore a destra e a sinistra del seno longitudinale superiore, continuando i tagli sino alle arcate sopraccigliari e indietro sino alla fontanella posteriore. Verranno eseguiti altri 4 tagli, due anteriori e due posteriori, vengono aperte le suture parieto-occipitali destra e sinistra, prolungando anteriormente l'estremo inferiore verso il frontale e parietale. Verranno generati quindi 4 ampi lembi ossei, poi ribaltati verso l'esterno. Si asporta la dura madre con il seno longitudinale superiore. È consigliato un indurimento iniziale dell'encefalo con soluzione di formalina attraverso la fontanella anteriore in ciascuno dei ventricoli laterali. In presenza di idrocefalo, è conveniente sezionare l'encefalo assieme alla calotta, con il metodo di Griensiger.

Al termine dell'esame autoptico e delle procedure di campionamento dei diversi organi e tessuti, si procede alla ricomposizione del feto. Questa fase riveste un'importanza non solo tecnica, ma anche etica e deontologica, in quanto mira a restituire il corpo in condizioni decorose e rispettose, soprattutto in considerazione del possibile successivo affidamento ai genitori per le pratiche funerarie.

Dopo aver completato la documentazione macroscopica e il prelievo dei campioni destinati alle analisi istologiche, gli organi interni eventualmente rimossi vengono ricollocati nella cavità toraco-addominale oppure, qualora non sia possibile per ragioni tecniche o diagnostiche, sostituiti con materiale assorbente idoneo. Le cavità corporee vengono quindi deterse da eventuali residui ematici e accuratamente pulite.

Successivamente si procede alla ricostruzione della parete toracica e addominale, riposizionando i lembi cutanei precedentemente incisi. La sutura viene eseguita con punti continui o staccati utilizzando materiale di sutura adeguato, al fine di garantire una chiusura stabile e un risultato esteticamente il più possibile conservativo.

Una volta completata la sutura, il corpo del feto viene deterso, asciugato e ricomposto in posizione anatomica. In questa fase si verifica inoltre la corretta identificazione del caso e l'adeguata conservazione dei campioni biologici prelevati, che devono essere opportunamente etichettati e registrati secondo le procedure del laboratorio.

La ricomposizione finale conclude la procedura autoptica e rappresenta un passaggio fondamentale per garantire il rispetto della dignità del corpo e delle norme etico-professionali che regolano l'attività dell'anatomia patologica.

I campioni prelevati verranno portati nel reparto di Anatomia Patologica per l'analisi istopatologica.

L'analisi delle linee guida internazionali descrive il flusso operativo standardizzato di competenza del TLB.

Per quanto riguarda i feti con età gestazionale precoce o intermedia, i campioni si distingueranno in residui fetali o placenta con all'interno materiale abortivo, e saranno trattati come materiale istologico nel reparto di Anatomia Patologica.

La fissazione in formalina è la prima e più critica fase della processazione istologica. Ha lo scopo di bloccare i processi autolitici e putrefattivi; preserva la morfologia cellulare e tissutale permettendone la colorazione istologica, e inattiva eventuali agenti patogeni.

Durante la fase analitica il campione inizialmente viene fissato in formalina tamponata 10% (pH 7,0-7,4) con rapporto fissativo:tessuto $\geq 10:1$ (ideale 20:1) per circa 48-72 ore (prolungato per tessuti autolitici). Per il feto, se viene eseguita autopsia completa dal patologo, i singoli organi vengono fissati separatamente in contenitori etichettati. Per feti molto piccoli (<20 settimane) può essere sufficiente una fissazione in toto seguita da campionamenti.

Per la placenta, la fissazione è consigliata preferibilmente entro 1-2 ore dall'espulsione per limitare l'autolisi: la placenta intera viene immersa in formalina tamponata con rapporto fissativo:tessuto 10:1 per circa 24 ore (48 ore ottimale). Per placente molto grandi (>600g) è necessario effettuare incisioni parallele ogni 1-2 cm per favorire la penetrazione del fissativo. Per il cordone ombelicale, il segmento deve essere di almeno 10 cm con entrambe le inserzioni (quando possibile) e viene fissato in formalina per 12-24 ore.

Si possono riscontrare delle criticità della fissazione, come l'iperfissazione, ovvero l'esposizione prolungata (>7 giorni) che rende difficili alcune colorazioni speciali e tecniche immunoistochimiche, l'ipofissazione, in cui il tessuto insufficientemente fissato continua il processo autolitico; la fissazione tardiva, una situazione in cui il campione arriva in uno stato autolitico avanzato.

Il campionamento macroscopico o "grossing" è una fase critica che richiede la stretta collaborazione tra patologo e TLB. Il patologo esegue personalmente questa fase, e il TLB deve essere presente per assistere il patologo durante l'esame macroscopico, registrando accuratamente le descrizioni macroscopiche, preparando le cassette istologiche, fotografando i reperti significativi quando richiesto ed infine etichettando correttamente ogni campione.

Il protocollo di campionamento della placenta specifico, descritto nella figura 6, viene seguito per campionare la placenta deve essere campionata in modo sistematico e completo. In primis si esegue un esame macroscopico preliminare, andando ad osservare peso, dimensioni, forma o integrità delle membrane, colorito, consistenza; si valuta la presenza di coaguli, infarti,

Placenta Singola:

Placenta del peso di gr....., di forma rotonda, ovale, irregolare bilobata, irregolare per lobi accessori, di cm.X.....

Il cordone ombelicale è lungo cm....., con diametro minimo di cm e massimo di cm; ha inserzione e in sede centrale, paracentrale, eccentrica, marginale.

Il grado di spiralizzazione è normale, ridotto, aumentato.

Al taglio il numero dei vasi è.....

Si segnala la presenza di nodi veri.
 Si segnala la presenza di falsi nodi.
 Si segnala la presenza di emorragie.

La superficie fetale appare normale di colorito blu-grigiastro, presenta colorazione anomala verdastra, presenta colorazione anomala marrone.

Si segnala la presenza di emorragie subcoriali, estese per cm.....

L'inserzione delle membrane è normale, circummarginata, circumvallata.

Si segnala la presenza di vasi superficiali trombizzati.
 Si segnala la presenza di cisti.
 Si segnala la presenza di bande amniotiche
 Si segnala la presenza di depositi biancastri (tipo amnion nodosum).

La superficie materna appare liscia, discontinua.

Si segnala la presenza di coaguli ematici adesivi, estesi per cm.....

Si segnala la presenza di ispessimenti biancastri di fibrina, estesi per cm.....

Al taglio lo spessore della placenta appare omogeneo di cm....., disomogeneo, variabile da cm..... a cm L'aspetto è omogeneo e il colore è rosso scuro normale, disomogeneo per presenza di lesione nodulare singola lesioni nodulari multiple, di colore rosso, pari al%. colore bianco, pari al%. di colore giallastro, pari al%.

NOTE:

Figura 6. Format del protocollo di campionamento della placenta

calcificazioni o inserzioni del cordone (centrale, eccentrica, marginale, velementosa). Nel cordone ombelicale viene valutata la lunghezza, diametro e spiralizzazione; il numero dei

vasi (normale = 2 arterie + 1 vena; anomalie: arteria ombelicale singola) o la presenza di nodi veri, ematomi e trombosi. Nelle membrane si osserva l'inserzione (normale, circumvallata o circummarginata); l'opacità o il colore.

Per quanto riguarda la placenta gemellare (figura 7), il protocollo di campionamento, descritto nella figura 8, segue gli stessi principi descritti per la placenta singola, con particolare attenzione alla presenza di due territori placentari. In primo luogo, si valuta se le placente siano separate o fuse, ricercando eventuali reperi utili a distinguere i due compartimenti. L'esame macroscopico viene quindi eseguito in modo sistematico per

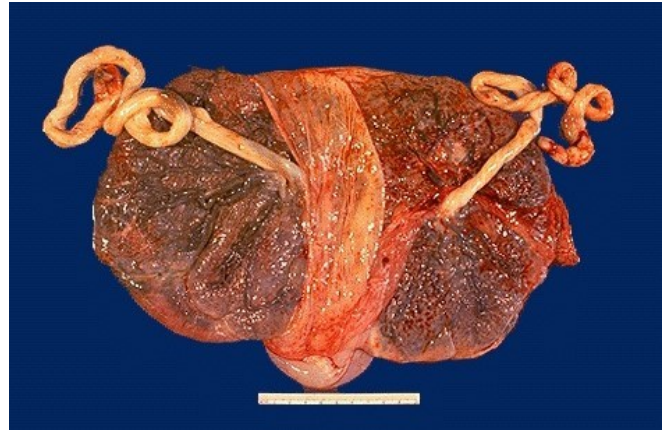


Figura 7. Aspetto macroscopico della placenta gemellare bioamniotica

ciascuna placenta, analizzando peso, dimensioni, forma e integrità delle membrane, nonché le caratteristiche del cordone ombelicale.

È fondamentale considerare separatamente i reperti relativi a ciascun gemello e confrontare i due territori placentari, al fine di evidenziare eventuali differenze morfologiche o patologiche.

Particolare attenzione viene infine posta allo studio delle membrane e dei rapporti tra i due sacchi amniotici, che possono fornire indicazioni utili sulla corionicità e amnionicità.

Placenta gemellare bicoriale e biamniotica

Giungono due placente separate identificabili per la presenza di un reperi. non identificabili per assenza di reperi.

La placenta del primo nato/ Una placenta pesa gr....., è di forma rotonda, ovale, irregolare bilobata, irregolare per lobi accessori, di cm.....X.....
Il cordone ombelicale è lungo cm....., con diametro omogeneo, di cm....., disomogeneo, minimo di cm e massimo di cm; ha inserzione normale, velamentosa, e in sede centrale, paracentrale. eccentrica. marginale.
Il grado di spiralizzazione è normale. ridotto. aumentato.

Al taglio il numero dei vasi è

Si segnala la presenza di nodi veri.

Si segnala la presenza di falsi nodi.

Si segnala la presenza di emorragie.

La superficie fetale appare normale di colorito blu-grigiastro. presenta colorazione anomala verdastra. presenta colorazione anomala marrone.

Si segnala la presenza di emorragie subcoriali, estese per cm

L'inserzione delle membrane è normale. circummarginata. circumvallata.

Si segnala la presenza di vasi superficiali trombizzati.

Si segnala la presenza di cisti.

Si segnala la presenza di bande amniotiche

Si segnala la presenza di depositi biancastri (tipo amnion nodosum).

La superficie materna appare liscia. discontinua.

Si segnala la presenza di coaguli ematici adesi, estesi per cm

Si segnala la presenza di ispessimenti biancastri di fibrina, estesi per cm

Al taglio lo spessore della placenta appare omogeneo di cm....., disomogeneo, variabile da cm..... a cm..... L'aspetto è omogeneo e il colore è rosso scuro normale. disomogeneo per presenza di lesione nodulare singola lesioni nodulari multiple, di colore rosso, pari al%. di colore bianco, pari al%. di colore giallastro, pari al%.

NOTE:

La placenta del secondo nato/ L'altra placenta pesa gr., è di forma rotonda, ovale, irregolare bilobata, irregolare per lobi accessori, di cm.X.....

Il cordone ombelicale è lungo cm....., con diametro omogeneo, di cm....., disomogeneo, minimo di cm e massimo di cm; ha inserzione normale, velamentosa, e in sede centrale, paracentrale. eccentrica. marginale.

Il grado di spiralizzazione è normale. ridotto. aumentato.

Al taglio il numero dei vasi è

Si segnala la presenza di nodi veri.

Si segnala la presenza di falsi nodi.

Si segnala la presenza di emorragie.

La superficie fetale appare normale di colorito blu-grigiastro. presenta colorazione anomala verdastra. presenta colorazione anomala marrone.

Si segnala la presenza di emorragie subcoriali, estese per cm.....

L'inserzione delle membrane è normale. circummarginata. circumvallata.

Si segnala la presenza di vasi superficiali trombizzati.

Si segnala la presenza di cisti.

Si segnala la presenza di bande amniotiche

Si segnala la presenza di depositi biancastri (tipo amnion nodosum).

La superficie materna appare liscia. discontinua.

Si segnala la presenza di coaguli ematici adesi, estesi per cm

Si segnala la presenza di ispessimenti biancastri di fibrina, estesi per cm

Figura 8. Format del protocollo di campionamento della placenta gemellare

Secondo i protocolli PSANZ e Royal College il campionamento prevede la placenta un minimo 4-6 sezioni rappresentative + aree patologiche. Le sezioni saranno perpendicolari alla superficie materna per includere la piastra corionica, villi e la piastra basale. Per il cordone si eseguono 3 sezioni trasversali (inserzione placentare, centro, inserzione fetale). Per le membrane si esegue un rotolo di membrane (roll) che include amnios, corion e decidua [12, 13, 14]

Il protocollo di campionamento fetale dipenderà dall'epoca gestazionale e dal grado di macerazione. Per i feti di età gestazionale <20 settimane o fortemente macerati il campionamento è limitato ma mirato: gli organi principali da esaminare sono cuore, polmoni, fegato, reni ed encefalo se possibile, la cute per la valutazione del grado di macerazione. I feti di età gestazionale >20 settimane, invece, se in buono stato di conservazione, vengono campionati in toto durante il riscontro diagnostico nella Sala Settoriale.

Il campionamento multiorgano inizia con l'analisi dell'encefalo e midollo spinale, attraverso sezioni coronali multiple, per poi continuare nell'apparato cardiovascolare attraverso sezioni del cuore, che includono il setto interventricolare e l'origine dei grossi vasi. Vengono prelevati invece almeno due campioni per polmone, seguiti da sezioni di trachea e dei bronchi principali.

Della cavità addominale vengono prelevati progressivamente i campioni di: esofago, stomaco, grande e piccolo intestino, fegato di cui almeno due sezioni, e pancreas. L'apparato urogenitale viene campionato in toto, esaminando i reni bilateralmente, ureteri, vescica, gonadi e surreni.

Nel caso in cui fossero identificabili, i linfonodi vengono campionati assieme al timo e alla milza. Vengono inoltre esaminati cute, tessuto muscolare e osseo, tiroide e paratiroidi

Ogni campione viene inserito in cassette istologiche opportunamente etichettate con numero di protocollo, l'identificazione dell'organo e della sede, il numero progressivo della cassetta. Il TLB registra il numero totale di cassette prodotte e documenta la corrispondenza tra campioni e cassette.

Una volta eseguito il campionamento, i tessuti contenuti nelle cassette devono essere processati per permettere la microtomia. Questo processo, generalmente automatizzato, prevede passaggi sequenziali di: Disidratazione, ovvero la rimozione dell'acqua dai tessuti mediante passaggi in alcol etilico a concentrazioni crescenti (70% → 80% → 95% → 100%); Diafanizzazione o chiarificazione mediante l'immersione in xilene o suoi sostituti meno tossici; Inclusione in paraffina, tramite l'immersione del campione in paraffina fusa (56-60°) per un tempo che può variare dalle 12 alle 16 ore (per i processori automatici)

Tenendo in considerazione il fatto che i tessuti autolitici possono disintegrarsi durante la processazione, sarebbe opportuno considerare l'uso di cassette con spugna o filtri. Con tessuti molto piccoli vi è invece il rischio della loro perdita, per cui cassette con mesh fine o wrapping in carta velina rappresentano la soluzione all'eventuale problema. I tessuti calcificati (es. ossa fetali) richiedono decalcificazione preliminare con acidi o EDTA prima della processazione.

Completato il ciclo di processazione, il TLB procede all'inclusione finale che consiste nell'orientamento del tessuto in maniera tale da avere una visione ottimale della sezione (es. cordone ombelicale in sezione trasversale), versamento della paraffina sciolta in stampi metallici, raffreddamento su piastra refrigerata per una solidificazione rapida, rimozione dallo stampo e rifinitura del blocco per esporre la superficie di taglio.

Ogni blocchetto presenta come codice univoco il numero di protocollo con il numero progressivo corrispondente alla cassetta originale, accompagnato dalla documentazione del caso.

Una volta raffreddato il campione, si procede con la microtomia. La microtomia è la fase in cui il TLB produce sezioni sottili di tessuto che verranno successivamente colorate e montate sul vetrino. Per il taglio delle sezioni di campione, lo spessore standard è di 3-5 µm (4 µm più comune, 3 µm per i tessuti molto delicati e 5 µm per tessuti più densi) che verranno adagiati su vetrini silanizzati per una migliore adesione.

La colorazione standard è l'Ematossilina & Eosina (HE).

La procedura del taglio inizia con la preparazione del blocco, mediante raffreddamento su ghiaccio o su piastra refrigerata, seguita dal montaggio del blocchetto sul portablocco del microtomo e la rimozione della paraffina superficiale per l'esposizione del tessuto (trimming). Le sezioni generano un "nastro" continuo grazie alla paraffina, di cui verranno selezionate solo quelle migliori, ovvero complete e senza pieghe. Le sezioni vengono poi distese su un bagno termostatico a 40-42° e raccolti su un vetrino porta-oggetto, per essere asciugate in stufa a 60° per 30-60min.

Ogni vetrino deve essere identificato inequivocabilmente con il numero di protocollo dell'esame, il numero del blocchetto ed il tipo di colorazione (inizialmente ematossilina-eosina HE). Il TLB mantiene un registro che correla vetrini, blocchetti e cassette originali, garantendo la piena tracciabilità.

Sono richieste competenze tecniche, che limitano la generazione di errori: i tessuti friabili tendono a frammentarsi; perciò, un ulteriore raffreddamento o l'uso di supporti adesivi potrebbero rivelarsi d'aiuto; i tessuti autolitici rischiano la perdita di coesione, per cui bisogna prestare attenzione durante il taglio; i tessuti molto piccoli sono difficili da orientare e tagliare, e quindi può diventare necessario tagliare seriazioni multiple per non perdere il campione.

I vetrini, una volta asciugati, vengono portati nel coloratore automatico per la prima colorazione di routine. Prima di ogni colorazione, che sia standard o speciale, deve subire un trattamento di deparaffinazione, tramite xilene, concentrazioni decrescenti di alcool e reidratazione con acqua distillata per poi poter essere colorato. Il registro delle colorazioni comprende le colorazioni eseguite (tipologia e data); i lotti dei reagenti utilizzati; il risultato dei controlli di qualità ed eventuali problemi tecnici.

Ematossilina-Eosina (HE)

La colorazione con ematossilina-eosina è la colorazione di base che permette la valutazione morfologica generale dei tessuti. È sempre la prima colorazione eseguita su tutti i campioni. L'ematossilina è un colorante basico che tinge in blu-viola le strutture acide (nuclei, RNA, calcificazioni), mentre l'eosina è un colorante acido che evidenzia in rosa-rosso le strutture basiche (citoplasma, collagene, fibre muscolari). ^[31,32]

Per la colorazione nucleare si utilizza l'Ematossilina di Harris o di Mayer con differenziazione in alcol-acido (HCL 0,5% in alcol 70%): otterremo un viraggio di colore nucleare verso il blu. Il citoplasma viene tinto con eosina in soluzione acquosa o alcolica, per poi essere lavato rapidamente in acqua.

Una volta effettuata la colorazione si passa alla fase di disidratazione e montaggio, immergendo inizialmente il vetrino in alcool 95% per poi passare ad una gradazione maggiore (alcool 100%) e successivamente all'immersione nello xilene. Sul vetrino verrà poi applicato il balsamo su cui poi aderirà il coprioggetto.

Il TLB deve verificare il contrasto adeguato delle componenti cellulari (nuclei blu intenso ma non sovracolorati, citoplasma rosa); l'assenza di precipitati, principalmente causati da soluzioni esauste o filtrate male; l'assenza di artefatti, ad esempio bolle d'aria sotto il coprioggetto o pieghe nel tessuto.

Colorazioni speciali

In base ai reperti macroscopici e microscopici preliminari, il patologo può richiedere colorazioni speciali per approfondire aspetti specifici. Il TLB è responsabile dell'esecuzione tecnica di queste colorazioni.

Per le colorazioni del tessuto connettivo e dei vasi, si utilizzano la colorazione Tricromica di Masson, che evidenzia in blu/verde il collagene, in rosso il tessuto muscolare e i nuclei in nero. Questa colorazione viene utilizzata per la valutazione della fibrosi placentare, sclerosi vascolare e nella valutazione dello sviluppo cardiaco.

Per la colorazione delle fibre elastiche si sfrutta la tecnica di Weigert e Orcein, colorandole di nero o bruno; viene utilizzata nella valutazione dell'elastosi vascolare placentare, per lo sviluppo vascolare polmonare.

Per l'identificazione dei microrganismi vengono utilizzate diverse colorazioni in base alla tipologia. La colorazione di Gram permette la differenziazione dei batteri Gram-positivi, in viola, dai Gram-negativi di colore rosa. Questi microrganismi possono essere riscontrati principalmente nella placenta, nei polmoni o nelle membrane (corioamnionite). La colorazione PAS (Periodic Acid-Schiff) viene utilizzata per l'identificazione delle infezioni fungine (Candida) e per la valutazione del glicogeno fetale, tingendoli di magenta. Per la diagnosi di infezioni fungine sistemiche viene utilizzata la colorazione di Grocott (Gomori methenamine silver), colorando i miceti di nero. In un sospetto di tubercolosi congenita, viene utilizzata la colorazione di Ziehl-Neelsen, colorandoli di rosso su sfondo blu.

Oltre alle colorazioni utilizzate per l'identificazione dei microrganismi, possono essere impiegate anche tecniche istochimiche finalizzate alla dimostrazione di specifici depositi o sostanze nei tessuti. In questo contesto, la colorazione Blu di Prussia (Prussian Blue) consente di evidenziare il ferro sotto forma di emosiderina, che appare di colore blu, risultando utile nella valutazione di emorragie placentari croniche o condizioni di emosiderosi. Un'altra colorazione è il Rosso Congo, utilizzato per l'identificazione dei depositi di amiloide, che assumono una colorazione rosso-arancio e mostrano una caratteristica birifrangenza verde alla luce polarizzata; tuttavia, questa metodica trova scarso impiego nel contesto della morte endouterina fetale.

Sebbene le colorazioni istochimiche rappresentino strumenti fondamentali per l'identificazione di microrganismi, depositi e componenti tissutali, in alcuni casi esse non consentono una caratterizzazione sufficientemente specifica degli agenti eziologici o delle alterazioni cellulari. In queste situazioni risulta particolarmente utile il ricorso a tecniche più avanzate, come l'immunoistochimica (IHC), che permette l'identificazione di specifici antigeni mediante l'utilizzo di anticorpi diretti contro determinati bersagli molecolari. È una tecnica che utilizza anticorpi specifici per rilevare antigeni presenti nei tessuti.

Nel contesto della MEF, l'immunoistochimica può essere utilizzata per identificare agenti infettivi, come anticorpi anti-CMV, anti-Toxoplasma, anti-Parvovirus B19, anti-HSV; caratterizzare i tessuti con marcatori vascolari (CD31 e CD34) o trofoblastici (CK7 e PLAP); valutare vie apoptotiche con marcatori di morte cellulare programmata.

Il precipitato che verrà visualizzato al microscopio viene generato mediante una reazione enzimatica tra l'anticorpo primario, specifico per l'antigene di interesse e legato al tessuto, e l'anticorpo secondario, coniugato con fluorocromo. [33, 34]

Nel protocollo tecnico per l'immunoistochimica i campioni che devono essere trattati saranno sempre sezioni tessutali di 3-4 μm su vetrini silanizzati o caricati positivamente, per garantire una migliore adesione del tessuto. Inizialmente ci sarà una deparaffinazione delle sezioni, seguita da uno smascheramento antigenico per il recupero degli epitopi, che possono risultare mascherati dalla fissazione in formalina. Esistono vari metodi come il metodo a calore, con immersione in tampone citrato a pH 6 o EDTA a pH 9 in pentola a pressione o microonde o a bagno a 95-100°C per 20-40 minuti. Questo passaggio consente di rompere i legami generati dalla formalina che impediscono il corretto riconoscimento degli epitopi da parte degli anticorpi. Successivamente si procede con la fase di immunomarcatura. In primo luogo, viene effettuato il blocco delle perossidasi endogene mediante incubazione con perossido di idrogeno (H_2O_2) al 3% in metanolo, allo scopo di prevenire reazioni aspecifiche durante la rivelazione cromogenica. Segue il blocco dei siti aspecifici, ottenuto tramite incubazione con siero normale (ad esempio bovino o suino) per circa 20 minuti, al fine di ridurre il legame non specifico degli anticorpi. [35, 36]

Successivamente viene applicato l'anticorpo primario, diluito in un opportuno tampone (PBS o PBS contenente albumina sierica bovina), con un tempo di incubazione generalmente compreso tra 30 e 60 minuti a temperatura ambiente oppure overnight a 4 °C, in base al protocollo specifico dell'anticorpo utilizzato. Al termine dell'incubazione vengono effettuati lavaggi con tampone PBS o TBS, generalmente tre cicli di circa 5 minuti ciascuno, per rimuovere l'anticorpo non legato.

A questo punto viene applicato l'anticorpo secondario biotinilato, che viene incubato per circa 30 minuti a temperatura ambiente. Dopo ulteriori lavaggi con PBS o TBS, si procede con l'applicazione del complesso streptavidina-perossidasi, secondo il sistema ABC (Avidin-Biotin Complex), anch'esso incubato per circa 30 minuti, seguito nuovamente da lavaggi in tampone. La rivelazione della reazione immunoistochimica avviene mediante l'utilizzo di un cromogeno, generalmente la 3,3'-diaminobenzidina (DAB), che viene applicata per circa 3–10 minuti sotto controllo microscopico. In presenza di una reazione positiva si osserva la formazione di un precipitato di colore marrone nei siti di legame antigene-anticorpo. [33, 34, 35, 36]

La procedura prosegue con un lavaggio in acqua distillata per circa 5 minuti e con una controcolorazione nucleare mediante ematossilina di Mayer per 1–2 minuti. Infine, i preparati vengono sottoposti alle fasi di disidratazione, chiarificazione e montaggio definitivo, analogamente a quanto avviene nelle colorazioni istologiche standard.

L'immunoistochimica può essere utilizzata mediante l'applicazione di specifici pannelli anticorpali, selezionati in base al sospetto diagnostico e alle alterazioni osservate all'esame istopatologico. L'impiego di questi pannelli consente di identificare agenti infettivi, valutare le caratteristiche della placenta e analizzare eventuali fenomeni trombotici o vascolari.

Per quanto riguarda la ricerca di agenti infettivi, possono essere utilizzati anticorpi diretti contro specifici patogeni coinvolti nelle infezioni congenite. In particolare, anticorpi anti-citomegalovirus (CMV), diretti contro antigeni precoci e tardivi del virus, permettono l'identificazione delle cellule infettate. Analogamente, anticorpi anti-HSV1/2 consentono il riconoscimento del virus Herpes simplex nei tessuti fetali o placentari. Un ulteriore marcatore di rilievo è rappresentato dal Parvovirus B19, la cui identificazione risulta particolarmente importante nei casi di idrope fetale non immune. Nel caso di *Toxoplasma gondii*, l'immunoistochimica può essere utilizzata per evidenziare il parassita nei tessuti, sebbene nella pratica diagnostica venga spesso preferito il ricorso a metodiche molecolari, come la PCR.

L'immunoistochimica trova inoltre applicazione nella valutazione della placenta. In questo ambito, la citocheratina 7 (CK7) rappresenta un marcatore utile per l'identificazione delle cellule trofoblastiche. I marcatori endoteliali CD31 e CD34 consentono invece di evidenziare l'endotelio vascolare e di valutare la vascolarizzazione placentare. Il marcatore proliferativo Ki-67 permette infine di stimare l'attività proliferativa del trofoblasto, fornendo indicazioni sullo stato funzionale del tessuto placentare.

Un ulteriore ambito di applicazione riguarda lo studio di fenomeni trombotici e condizioni associate a trombofilia. In questi casi possono essere utilizzati marcatori come CD61, un antigene piastrinico che consente l'identificazione dei trombi piastrinici nei vasi, e il fibrinogeno, utile per evidenziare la presenza di depositi fibrinoidi all'interno dei tessuti.

Nonostante l'elevata specificità diagnostica dell'immunoistochimica, l'interpretazione dei risultati può risultare complessa in presenza di alcune condizioni tecniche o biologiche dei campioni. In particolare, nei casi di morte endouterina fetale i tessuti possono presentare vari gradi di autolisi, che possono influenzare la conservazione degli antigeni. Nei tessuti autolitici, infatti, gli antigeni possono andare incontro a degradazione a causa dei processi autolitici. Alcuni anticorpi risultano tuttavia più resistenti a tali fenomeni, come quelli diretti contro le citocheratine, mentre altri sono particolarmente sensibili, come i marcatori di apoptosi. In queste situazioni può essere necessario ottimizzare il protocollo aumentando la concentrazione dell'anticorpo primario oppure prolungando il tempo di incubazione.

Un'ulteriore criticità può essere rappresentata dalla iperfissazione dei tessuti. Una fissazione prolungata in formalina può infatti determinare la formazione di legami crociati che mascherano in modo marcato gli epitopi antigenici, rendendone difficile il riconoscimento da parte degli anticorpi. In tali circostanze è spesso necessario ricorrere a procedure di recupero antigenico più aggressive, ad esempio utilizzando temperature più elevate o prolungando i tempi di trattamento durante la fase di smascheramento antigenico.

Durante l'esecuzione delle metodiche immunoistochimiche possono inoltre comparire diversi artefatti tecnici. Tra questi è possibile osservare una colorazione di fondo diffusa, che può essere ridotta diminuendo la concentrazione dell'anticorpo o prolungando la fase di

blocco dei siti aspecifici. Possono verificarsi anche colorazioni aspecifiche, per le quali risulta necessario ottimizzare la diluizione dell'anticorpo e verificarne attentamente la specificità. In altri casi si può osservare una mancata positività della reazione immunoistochimica; in tali situazioni è opportuno controllare le condizioni di smascheramento antigenico, la corretta conservazione dei reagenti e la data di scadenza degli anticorpi utilizzati. Per garantire l'affidabilità dei risultati, l'immunoistochimica richiede inoltre l'applicazione di rigorosi controlli di qualità. Questi comprendono la valutazione della morfologia tissutale, l'utilizzo di controlli positivi e negativi e la verifica dell'assenza di artefatti tecnici. In particolare, il tecnico di laboratorio biomedico deve includere in ogni seduta analitica un controllo positivo, costituito da un tessuto con espressione nota dell'antigene in studio, e un controllo negativo, rappresentato da una sezione del caso in esame incubata in assenza dell'anticorpo primario e sostituito con siero o tampone PBS. Parallelamente, devono essere mantenuti registri di laboratorio accurati, nei quali vengono riportate informazioni relative agli anticorpi utilizzati (clone, diluizione e produttore), al protocollo di smascheramento antigenico impiegato, ai risultati dei controlli effettuati e alla data di esecuzione dell'analisi. Queste procedure di controllo e tracciabilità rappresentano un elemento fondamentale per garantire la qualità e la riproducibilità delle indagini immunoistochimiche.

Il TLB è responsabile della registrazione accurata di ogni fase del percorso diagnostico. La documentazione comprende i registri di accettazione e di processazione dei campioni, la tracciabilità di tutte le fasi diagnostiche, incluse le procedure di colorazione istologica e immunoistochimica, l'archiviazione delle immagini digitali e la registrazione della corrispondenza tra vetrini, blocchetti paraffinati e cassette associati allo stesso campione. Tale documentazione riveste un ruolo fondamentale per garantire la tracciabilità del materiale biologico, la certificazione della qualità del processo diagnostico, la riproducibilità delle procedure e la possibilità di riscontro in caso di eventuali contestazioni medico-legali.

Una volta eseguite le colorazioni richieste, i preparati istologici vengono sottoposti all'osservazione microscopica da parte del medico patologo, il quale procede alla valutazione morfologica dei tessuti e alla formulazione della diagnosi, successivamente riportata nel referto istopatologico.

Per quanto riguarda la conservazione del materiale, i blocchetti paraffinati vengono archiviati a temperatura ambiente in appositi spazi dedicati, ordinati secondo il numero di protocollo assegnato al caso. Il tempo minimo di conservazione è generalmente di 10 anni, con raccomandazione di estendere l'archiviazione fino a 20 anni o anche in modo permanente nei casi di particolare interesse medico-legale. Analogamente, i vetrini istologici vengono conservati in apposite scatole d'archivio, anch'esse ordinate per numero di protocollo. Anche in questo caso il tempo minimo di conservazione è di almeno 10 anni, garantendo la disponibilità dei vetrini colorati con metodiche standard per eventuali revisioni diagnostiche. I materiali macroscopici residui fissati in formalina vengono generalmente conservati fino alla refertazione definitiva del caso e successivamente smaltiti secondo le normative vigenti oppure, in alcune circostanze, restituiti alla famiglia. Infine, le fotografie macroscopiche e microscopiche ottenute durante l'esame anatomopatologico vengono archiviate in formato digitale all'interno del sistema informatico di laboratorio, con esecuzione di backup periodici. Le immagini vengono associate al caso tramite il numero di protocollo, garantendo così una corretta integrazione con la documentazione diagnostica e la completa tracciabilità del materiale analizzato.

4. Dati sulla Resa diagnostica

Diversi studi hanno evidenziato come l'esame autoptico fetale rappresenti uno strumento fondamentale per l'identificazione della causa di morte nella morte endouterina fetale (MEF). Le autopsie fetali eseguite da patologi esperti hanno permesso di identificare la causa di morte nel 94% dei casi, evidenziando l'elevata resa diagnostica di questa procedura quando eseguita in centri specializzati.

Un'analisi di 243 autopsie perinatali complete, eseguite tra il 2008 e il 2021, ha evidenziato che una causa placentare è stata identificata nel 46% dei casi. Tuttavia, lo studio ha anche sottolineato come solo il 4,6% delle morti fetali o neonatali abbia ricevuto un'autopsia completa associata all'esame della placenta, evidenziando come questa procedura sia ancora sottoutilizzata.

Tra il 2022 e il 2024, uno studio su 178 nati morti ha dimostrato che solo il 14% dei casi (25 su 178) ha ricevuto il consenso dei genitori per l'esecuzione dell'autopsia. Nonostante il basso tasso di consenso, l'autopsia ha consentito di ottenere una diagnosi definitiva nell'88,2% dei casi esaminati, dimostrando ancora una volta l'elevato valore diagnostico di questa indagine. ^[37, 38, 39, 40]

Più recentemente nel 2024, uno studio condotto su 138 casi e basato sull'applicazione di criteri diagnostici rigorosi e integrati, comprendenti esame autoptico, analisi della placenta, dati clinici e tecniche di imaging, la causa di morte è stata definita nel 72% dei casi (100/138), mentre il 28% dei casi (38/138) è rimasto inspiegato.

Le cause della morte fetale sono numerose e possono essere suddivise in cause placentari, fetali e materne.

Le cause placentari rappresentano una delle categorie più frequenti e spiegano circa il 28–46% dei casi. Tra queste rientra in particolare l'insufficienza placentare associata a malperfusion vascolare materna (Maternal Vascular Malperfusion, MVM), che costituisce una delle cause più comuni. Altre condizioni comprendono il distacco di placenta, la trombosi dei vasi placentari, gli infarti placentari estesi (coinvolgenti oltre il 10% del volume della placenta) e le alterazioni dei vasi coriali. [41]

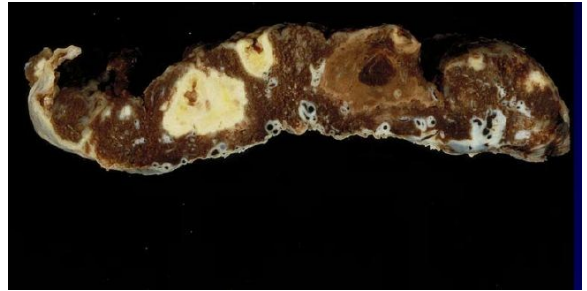


Figura 9. Aspetto macroscopico della placenta con presenza di infarti multifocali. Le lesioni appaiono come aree di necrosi ischemica indurite e di colore chiaro all'interno del parenchima placentare

Tra le cause placentari devono inoltre essere considerate le forme di origine infettiva, che rappresentano la seconda causa più frequente. In questo gruppo rientrano la corioamnionite ascendente, le infezioni congenite (come quelle da citomegalovirus, *Toxoplasma gondii*, Parvovirus B19 e virus Herpes simplex), la villite cronica e la funisite.

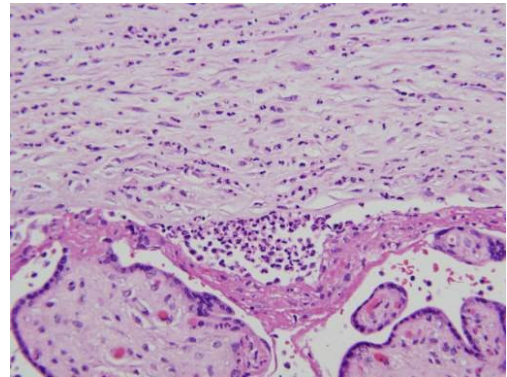


Figura 10. Aspetto istologico della placenta affetta da Corioamniosite acuta. È presente un'infiltrato neutrofilo nelle membrane corioamniotiche, compatibile con infezione ascendente

Le cause fetali rappresentano circa il 25–45% dei casi e comprendono principalmente le malformazioni congenite, che nei paesi sviluppati costituiscono circa il 25–30% delle cause fetali di morte, oltre alle anomalie cromosomiche, all'idrope fetale non immune e alla restrizione della crescita intrauterina (IUGR). [42, 43]

Un ulteriore gruppo di cause è rappresentato dalle alterazioni del cordone ombelicale, che possono includere nodi veri del cordone, torsione o iperavvolgimento, ematomi del cordone, trombosi dei vasi ombelicali, stenosi vascolari e la presenza di arteria ombelicale singola.



Figura 11. Aspetto macroscopico del cordone ombelicale con nodo vero. Si osserva una strozzatura a nodo unico, con aspetto lucido e gelatinoso della superficie. La gelatina di Wharton e la superficie esterna risultano integra.



Figura 12. Aspetto macroscopico del cordone ombelicale con iperavvolgimento patologico. Le spire appaiono strette e frequenti, una condizione che può aumentare la rigidità del funicolo e influenzare la dinamica del flusso ematico fetale

Le cause materne incidono invece per circa il 12–24% dei casi. Tra queste, le più rilevanti sono l'ipertensione gestazionale e la preeclampsia, che rappresentano la causa materna più comune, seguite dal diabete gestazionale non controllato, dalle malattie autoimmuni (come la sindrome da anticorpi antifosfolipidi e il lupus eritematoso sistemico), dalle patologie tiroidee e dalle trombofilie.

Nonostante un'approfondita indagine diagnostica che includa autopsia fetale, studio della placenta, valutazione clinica e indagini di laboratorio, una quota significativa di casi — pari a circa il 38–40% — rimane tuttavia senza una causa identificabile e viene pertanto classificata come morte fetale inspiegata.

Conclusione

I dati epidemiologici analizzati rivelano un quadro preoccupante: nonostante i progressi della medicina perinatale, la MEF continua a colpire circa 2 milioni di famiglie ogni anno a livello globale, con un tasso di riduzione annuale (2,3% nel periodo 2000-2019) significativamente inferiore a quello della mortalità neonatale (2,9%) e della mortalità infantile (4,3%). Questa "stagnazione relativa" nella riduzione della MEF rispetto ad altre forme di mortalità perinatale suggerisce che le cause della MEF sono spesso multifattoriali e complesse, non sempre prevenibili con le attuali strategie di sorveglianza ostetrica.

Esiste un "plateau" diagnostico: circa il 30-40% delle MEF rimane inspiegato anche dopo protocollo completo, indicando limiti nelle attuali capacità diagnostiche. La MEF riceve minore attenzione nella ricerca e nelle politiche sanitarie rispetto alla mortalità neonatale. In Europa, la marcata variabilità nei tassi di natimortalità tra paesi (da 2,0‰ in Finlandia a 4,9‰ in Francia) non può essere spiegata solo da differenze nelle definizioni o nella registrazione. Questa disparità riflette differenze nell'organizzazione dei sistemi sanitari; diversa accessibilità alle cure prenatali; variazioni nei protocolli di screening e sorveglianza; qualità differente nell'assistenza ostetrica.

L'Italia, con un tasso di 3,7 per 1.000 nascite, si colloca in posizione intermedia nel panorama europeo. Tuttavia, emergono criticità specifiche, come i problemi di registrazione: il 26% dei valori mancanti per il peso alla nascita rappresenta una lacuna che compromette la qualità dei dati epidemiologici, impedisce confronti internazionali accurati, limita l'identificazione dei fattori di rischio specifici o ostacola la pianificazione di interventi preventivi mirati.

Uno studio dell'Emilia-Romagna ha identificato fattori di rischio modificabili, con opportunità di miglioramento, come il sovrappeso materno pre-gravidico (OR 1.35, rapporto di probabilità), un accesso ritardato alle cure prenatali (OR 1.63), neonati piccoli per l'età gestazionale non diagnosticati (OR 2.47). Questi dati suggeriscono che interventi preventivi mirati (counseling pre-concezionale, screening ecografico ottimizzato, sorveglianza intensificata per categorie a rischio) potrebbero ridurre significativamente l'incidenza di MEF.

L'analisi delle linee guida internazionali rivela approcci parzialmente differenti tra il protocollo PSANZ (Australia/Nuova Zelanda), le linee guida Royal College of Pathologists (UK) e le raccomandazioni AOGOI (Italia). Questa variabilità può generare difformità operative tra centri, anche inter-laboratorio, con possibili contenziosi in ambito medico-legale. [12, 13, 14, 44, 45]

La morte endouterina fetale rappresenta un evento drammatico che interrompe il naturale corso della gravidanza, con profonde implicazioni emotive per le famiglie e rilevanti conseguenze sia cliniche che sanitarie. Nonostante i progressi della medicina perinatale, la MEF continua a colpire circa due milioni di famiglie ogni anno a livello globale, con un tasso di riduzione più lento rispetto ad altre forme di mortalità perinatale. L'esame autoptico fetale e l'analisi placentare costituiscono strumenti diagnostici essenziali per determinare le cause della MEF (identificate nel 60-94% dei casi con protocollo completo) e orientare la gestione delle gravidanze successive. In questo contesto complesso il Tecnico di Laboratorio Biomedico emerge come figura professionale insostituibile, il cui contributo tecnico-specialistico è determinante per la qualità della diagnosi anatomo-patologica. La stretta collaborazione tra TLB, patologi e clinici è essenziale al fine di ottimizzare il percorso diagnostico. La possibilità di fornire risposte diagnostiche alle famiglie, orientando la gestione delle gravidanze successive e riducendo il rischio di ricorrenza, dipende in modo critico dalla qualità dell'esame anatomo-patologico. Ogni preparato istologico allestito, ogni colorazione eseguita, ogni controllo qualità effettuato contribuisce concretamente alla possibilità di dare un senso a un evento altrimenti insopportabilmente inspiegabile.

Bibliografia

1. World Health Organization (WHO). *Stillbirth*. WHO Health Topics. <https://www.who.int/health-topics/stillbirth>
2. UNICEF. (2020). *A Neglected Tragedy: The Global Burden of Stillbirths*. Report. <https://www.unicef.org/reports/neglected-tragedy-global-burden-of-stillbirths-2020>
3. Hug, L., You, D., Blencowe, H., Mishra, A., Wang, Z., Fix, M.J., ... & Cousens, S. (2021). Global, regional, and national estimates and trends in stillbirths from 2000 to 2019: a systematic assessment. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34454675/>
4. Società Italiana di Anatomia Patologica e Citopatologia Diagnostica (SIAPEC-IAP). (2022). *Linee Guida Tracciabilità, Raccolta, Trasporto, Conservazione e Archiviazione di cellule e tessuti per indagini diagnostiche di Anatomia Patologica*. <https://www.siapec.it/2015/05/01/linee-guida-tracciabilita-raccolta-trasporto-conservazione-e-archiviazione-di-cellule-e-tessuti-per-indagini-diagnostiche-di-anatomia-patologica/>
5. Heazell, A.E., Siassakos, D., Blencowe, H., et al. (2016). Stillbirths: economic and psychosocial consequences. *The Lancet*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26794073/>
6. Flenady, V., Wojcieszek, A.M., Middleton, P., et al. (2016). Stillbirths: recall to action in high-income countries. *The Lancet*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26794070/>
7. Decreto Ministeriale 26 settembre 1994, n. 745. *Regolamento concernente l'individuazione della figura e del relativo profilo professionale del tecnico sanitario di laboratorio biomedico*. Gazzetta Ufficiale n. 6 del 9 gennaio 1995. <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/1995/01/09/095G0007/sg>
8. Legge 10 agosto 2000, n. 251. *Disciplina delle professioni sanitarie infermieristiche, tecniche, della riabilitazione, della prevenzione nonché della professione ostetrica*. Gazzetta Ufficiale n. 208 del 6 settembre 2000. <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2000/09/06/000G0299/sg>

9. Legge 2 febbraio 2006, n. 31. *Disciplina del riscontro diagnostico sulle vittime della strada e di morte improvvisa del lattante (SIDS) e morte inaspettata del feto*. Gazzetta Ufficiale n. 38 del 15 febbraio 2006. https://www.gazzettaufficiale.it/atto/vediMenuHTML?atto.dataPubblicazioneGazze tta=2006-02-10&atto.codiceRedazionale=006G0042&tipoSerie=serie_generale&tipoVigenza=originario
10. Decreto del Presidente della Repubblica 10 settembre 1990, n. 285. *Regolamento di polizia mortuaria*. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana. https://presidenza.governo.it/USRI/ufficio_studi/normativa/D.P.R.%2010%20sette mbre%201990,%20n.%20285.pdf
11. Regolamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 27 aprile 2016. *Regolamento generale sulla protezione dei dati (GDPR)*. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea L 119 del 4 maggio 2016. <https://www.garanteprivacy.it/il-testo-del-regolamento>
12. Perinatal Society of Australia and New Zealand (PSANZ). (2020). *Clinical Practice Guideline for Care Around Stillbirth and Neonatal Death*. Version 3.4. <https://sanda.psanz.com.au/assets/Uploads/Section-1-Overview-V4.3-6.01.2020.pdf>
13. Royal College of Pathologists. (2024). *Guidelines on autopsy practice: Fetal autopsy (2nd trimester and 3rd trimester)*. <https://www.rcpath.org/static/f6f3eb7b-f018-4f1d-b9099e40e0b2772f/9a518392-fa14-495b-990902d41f7a6411/G160-DRAFT-Fetal-autopsy-of-non-malformed-fetuses.pdf>
14. Royal College of Pathologists. (2024). *Guidelines on autopsy practice: Fetal autopsy (Second trimester fetal loss and termination of pregnancy for congenital anomalies)*. <https://www.rcpath.org/static/cba6e034-12d7-480d-b59e5cf9422d02dd/de52ae81-793d-48d5-a4b1055090ac2636/G161-Fetal-autopsy-of-2nd-trimester-fetal-loss.pdf>
15. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). (2020). *Management of Stillbirth: Obstetric Care Consensus No. 10. Obstetrics & Gynecology*.

<https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/obstetric-care-consensus/articles/2020/03/management-of-stillbirth>

16. World Health Organization (WHO). (2016). *ICD-10: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Revision*. Volume 2 – Instruction manual. Geneva: WHO. <https://iris.who.int/items/5858156c-f66b-43cc-be2c-37710e5cd2e6>
17. Benirschke, K., Burton, G.J., & Baergen, R.N. (2012). *Pathology of the Human Placenta* (6th Edition). Springer.
18. Kingdom, J., Huppertz, B., Seaward, G., & Kaufmann, P. (2000). Development of the placental villous tree and its consequences for fetal growth. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10986432/>
19. Moore, K.L., Persaud, T.V.N., & Torchia, M.G. (2017). *Lo sviluppo prenatale dell'uomo – Embriologia ad orientamento clinico* (10^a Edizione Italiana). Edra.
20. Soma-Pillay, P., Nelson-Piercy, C., Tolppanen, H., et al. (2016). Physiological changes in pregnancy. *Cardiovascular Journal of Africa*, 27(2). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27213856/>
21. Guyton, A.C., & Hall, J.E. (2017). *Fisiologia Medica* (13^a Edizione Italiana). Edra.
22. Reddy, U.M., Goldenberg, R., Silver, R., et al. (2009). Stillbirth classification – developing an international consensus for research. *Obstetrics & Gynecology*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19888051/>
23. Smith, G.C.S., & Fretts, R.C. (2007). Stillbirth. *The Lancet*, 370(9600), 1715–1725. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(07\)61723-1/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(07)61723-1/abstract)
24. Stillbirth Collaborative Research Network Writing Group. (2011). Causes of death among stillbirths. *JAMA*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22166605/>

25. Pinar, H., Goldenberg, R.L., Koch, M.A., et al. (2014). Placental findings in singleton stillbirths. *Obstetrics & Gynecology*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24402599/>
26. Lawn, J.E., Blencowe, H., Waiswa, P., et al. (2016). Stillbirths: rates, risk factors, and acceleration towards 2030. *The Lancet*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26794078/>
27. Euro-Peristat Project. (2018). *European Perinatal Health Report: Core indicators of the health and care of pregnant women and babies in Europe in 2015*. November 2018. https://www.europeristat.com/wp-content/uploads/2018/11/EPHR2015_web_hyperlinked_Euro-Peristat.pdf
28. Kniffka, M.S., Schöley, J., Lee, S., Bertens, L.C.M., Been, J.V., Gunnarsdóttir, J.; Euro-Peristat Network. (2025). Stillbirth rate trends across 25 European countries between 2010 and 2021: the contribution of maternal age and multiplicity. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39836899/>
29. Salerno, C., Fantini, M.P., Donati, S., et al. (2023). Stillbirth risk among term births in Emilia-Romagna: a population-based cohort study (2014–2021). *BMC Pregnancy and Childbirth*, 23. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10585316/>
30. Genest, D.R., & Singer, D.B. (1992). Estimating the time of death in stillborn fetuses: III. External fetal examination; a study of 86 stillborns. *Obstetrics & Gynecology*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1407878/>
31. Melis, M., Carpino, F., & Di Tondo, U. *Tecniche di anatomia patologica*. Milano: Edi-Ermes.
32. Suvarna, S.K., Layton, C., & Bancroft, J.D. (2013). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques* (7th Edition). Churchill Livingstone.
33. Matos, L.L., Trufelli, D.C., de Matos, M.G., et al. (2010). Immunohistochemistry as an important tool in biomarkers detection and clinical practice. *Biomark Insights*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20212918/>

34. Howat, W.J., Lewis, A., Jones, P., et al. (2014). Antibody validation of immunohistochemistry for biomarker discovery: recommendations of a consortium of academic and pharmaceutical based histopathology researchers. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24525140/>
35. Ramos-Vara, J.A., & Miller, M.A. (2014). When tissue antigens and antibodies get along: revisiting the technical aspects of immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24129895/>
36. Taylor, C.R., & Rudbeck, L. (2013). *Immunohistochemical Staining Methods* (6th Edition). Dako.
37. Keeling, J.W., & Khong, T.Y. (2015). *Fetal and Neonatal Pathology* (5th Edition). Springer.
38. Man, J., Hutchinson, J.C., Heazell, A.E., et al. (2016). Stillbirth and intrauterine fetal death: factors affecting determination of cause of death at autopsy. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27781317/>
39. Batra, A., et al. (2024). Importance of fetal autopsy: an institutional review and development of best practices for reporting size and estimating gestational age at demise. *American Journal of Clinical Pathology*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37921079/>
40. Faye-Petersen, O.M., Guinn, D.A., & Wenstrom, K.D. (1999). Value of perinatal autopsy. *Obstetrics & Gynecology*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10576175/>
41. Ernst, L.M. (2018). Maternal vascular malperfusion of the placental bed. *APMIS*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30129127/>
42. Redline, R.W. (2015). Classification of placental lesions. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. [https://www.ajog.org/article/S0002-9378\(15\)00533-5/fulltext](https://www.ajog.org/article/S0002-9378(15)00533-5/fulltext)

43. Burton, G.J., & Jauniaux, E. (2018). Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29422210/>
44. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana. (2014). *Protocollo per riscontro diagnostico di feto di età gestazionale superiore alla 25^a settimana*. Atto n. 14A08847. <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2014/11/22/14A08847/sg>
45. Associazione Ostetrici Ginecologi Ospedalieri Italiani (AOGOI). (2023). *Gestione della morte endouterina fetale (MEF), prendersi cura della natimortalità*. Raccomandazioni AOGOI. <https://www.aogoi.it/media/8827/17-raccomandazioni-mef-definitiva-7-febbraio-2023-min.pdf>
46. Khong, T.Y., Mooney, E.E., Ariel, I., et al. (2016). Sampling and definitions of placental lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27223167/>
47. Lawn, J.E., Ohuma, E.O., Bradley, E., et al. (2024). Small babies, big risks: global estimates of prevalence and mortality for vulnerable newborns to accelerate change and improve counting. *The Lancet*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37167989/>
48. Wojcieszek, A.M., Boyle, F.M., Belizán, J.M., et al. (2018). Care in subsequent pregnancies following stillbirth: an international survey of parents. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27905202/>
49. Wojcieszek, A.M., Reinebrant, H.E., Leisher, S.H., et al. (2018). Characteristics of a global classification for stillbirth: a Delphi consensus study. *BMC Pregnancy and Childbirth*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27527704/>
50. Christou, A., Alam, A., Hofiani, S.M.S., et al. (2021). How community and healthcare provider perceptions, practices and experiences influence reporting, disclosure and data collection on stillbirth: findings of a qualitative study in Afghanistan. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31326779/>

51. Legge 8 marzo 2017, n. 24. *Disposizioni in materia di sicurezza delle cure e della persona assistita, nonché in materia di responsabilità professionale degli esercenti le professioni sanitarie (Legge Gelli-Bianco)*. Gazzetta Ufficiale n. 64 del 17 marzo 2017. <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2017/03/17/17G00041/s>
52. Istituto Superiore di Sanità (ISS). *Sistema di Sorveglianza della Mortalità Perinatale – SPItOSS. Rapporti periodici*. <https://www.epicentro.iss.it/itoss/pdf/SpitossPresentazione13giugno2017.pdf>
53. Ministero della Salute. *Certificato di Assistenza al Parto (CeDAP) – Analisi dell'evento nascita – Anno 2021*. Direzione Generale della Digitalizzazione, del Sistema Informativo Sanitario e della Statistica. <https://www.salute.gov.it/new/it/pubblicazione/certificato-di-assistenza-al-parto-cedap-analisi-dellevento-nascita-anno-2021/>

A tutte le piccole vite che, anche nel silenzio,
continuano a insegnarci il valore della cura,
della ricerca e dell'umanità.

A chi ha trovato lungo il cammino
una forza che non sapeva di avere.

Desidero esprimere un sentito ringraziamento alla mia relatrice, la Professoressa Goteri Gaia, e ai tecnici di laboratorio del reparto di Anatomia Patologica e Sala Settoria dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria delle Marche, per la disponibilità, la guida e l'opportunità di apprendere sul campo quanto oggi porto in queste pagine.

Un ringraziamento particolare va a Damiana Bruzzese, Azzurra Seresi, Donatella Diotallevi e Veleria Steconi, il cui sostegno e la paziente collaborazione mi hanno accompagnata sin dal tirocinio fino alla stesura della tesi, rendendo possibile il completamento di questo lavoro.

Infine, desidero esprimere la mia profonda gratitudine alla Professoressa Balercia Marinella, che non si è limitata a svolgere il proprio ruolo con professionalità, ma è stata una presenza costante e significativa durante questo percorso. La sua disponibilità, il suo supporto e la sua capacità di incoraggiare nei momenti più difficili hanno rappresentato per me un punto di riferimento fondamentale. Grazie per aver creduto in me e per avermi aiutata ad andare avanti con determinazione e fiducia.

A questo punto della tesi dovrei ringraziare qualcuno "in modo formale", ma la verità è che niente, in questo percorso, è stato formale.

È stato un caos bellissimo, fatto di notti insonni, risate, crolli, ripartenze e di tutte le persone che hanno reso questa strada meno spaventosa e più mia.

Alla mia famiglia, ovvero i "Cheps & Sons", grazie.

Non solo per aver creduto in me, ma per aver sopportato i miei momenti "mi serve silenzio che devo studiare.", la mia ansia da prestazione e le sere in cui parlavo di esami, tirocinio e tesi come se fossero una serie Netflix di cui nessuno aveva chiesto spoiler.

Quelle volte che ero insicura di non voler accettare un voto, mi dicevate sempre "accetta e porta a casa", come se avessero visto il mio impegno e la mia crescita, più che il semplice voto finale.

Grazie perché siete stati casa, soprattutto quando io non mi sentivo all'altezza di niente.

Grazie ad Alè, questo è anche merito tuo. Mi hai supportata nei momenti di difficoltà, mi hai incoraggiata quando ero insicura e mi hai aiutata a trovare la fiducia nelle mie capacità. Ancora oggi, sei tu che mi dai consigli preziosi, che mi aiuti a scrivere mail professionali e a gestire le situazioni più complicate. Senza di te, e lo so che fa strano dirlo, non sarei arrivata fin qui. La tua presenza “s”-costante, il tuo sostegno e la tua pazienza hanno reso possibile questo.

A Gio e Bea, quelle che sanno tutto di me, anche ciò che non dico.

Questi anni sono stati un miscuglio di paure, risate, ansie, soddisfazioni, momenti in cui volevo scappare e altri in cui avrei voluto fermare il tempo.

E in mezzo a tutto questo... ci siete state voi due.

Siete state il mio pezzo di stabilità quando io mi sentivo un disastro ambulante.

Con tempi diversi, voti diversi, vite diverse, ma sempre, SEMPRE dalla mia parte. Non so nemmeno come spiegarlo, ma una delle cose per cui vi sarò sempre grata è questa: non mi avete mai fatta sentire “quella che è rimasta indietro”.

Nei miei momenti di insicurezza, quando guardavo i vostri tempi, i vostri voti, i vostri risultati e dentro di me pensavo “magari non sono abbastanza”, voi... semplicemente no, non mi avete mai guardata così.

Con voi mi sono sentita compresa, anche quando persino io non capivo me stessa. Avete avuto la delicatezza di farmi sentire sempre alla pari, sempre parte del gruppo, sempre “una di noi”, anche quando io avrei voluto scusarmi per la mia lentezza, per i miei tempi, per le mie paure. Perché non avete mai competuto, mai giudicato, mai messo distanze. E questo, davvero, vale più di qualsiasi esame che abbiamo dato.

A te, GioGio, che sei stata la mia presenza calma nei giorni in cui io calma non lo ero per niente. Grazie per avermi ascoltata sfogare senza giudicare, per avermi rimesso insieme quando mi sembrava di perdere i pezzi e per quei messaggi che iniziavano con “dai mari c'è la fai” e finivano con “poi dicci subito come va eh”.

Sei quella che sa sempre cosa dire, come dirlo e quando basta uno sguardo per capire tutto. E non lo dico spesso, ma ti voglio un bene che non si può spiegare in una pagina di ringraziamenti.

E poi ci sei tu, Bea. Tu che in questo percorso sei stata caffeina pura, in tutti i sensi. Grazie per i “dai che ce la fai” detti tra un sorso e l'altro, per le risate improvvise nei momenti meno adatti, per la tua capacità di trasformare anche le giornate più pesanti in qualcosa di sopportabile, o almeno commentabile con ironia.

Grazie perché, anche quando la mia testa era piena di ansia, paura e paranoie, tu trovavi sempre il modo di farmi sentire un po' meno in affanno: un messaggio, una battuta, un "mi accompagni a prendere il caffettino?" che funzionava meglio di qualsiasi terapia.

Bea, sei stata una parte bella di questo percorso e spero non finisca mai.

Grazie perché non hai mai fatto pesare le mie ansie, i miei tempi lenti, le mie mille paranoie.

Anzi, riuscivi a renderle più leggere, più “normali”, più vivibili.

Ovviamente, lungo il mio cammino ci sono state altre persone importanti per me (anche se si contano sulle dita di una mano, ma ehi, pochi ma buoni, no?).

Tra queste, Matteo, il mio fornitore personale di Monster, che c'è stato nei momenti in cui ero a pezzi e che, con la sua razionalità da trentenne incallito, riusciva sempre a tirarmi su il morale. C'è stato anche quando non volevo vedere nessuno ed è proprio per questo che gli sono profondamente grata: la sua presenza, silenziosa ma costante, ha reso più leggeri i momenti difficili e ha reso possibile arrivare fino a qui.

A Nicola, il nano minatore. Grazie per aver sopportato tutti i miei drammi catastrofici, universitari e non, e per essere stato al mio fianco anche quando la mia testardaggine sembrava insormontabile. Grazie per spronarmi a dare il massimo negli esami, per ridere con me nei momenti felici e per supportarmi quando tutto sembrava andare storto. Senza la tua pazienza, la tua ironia e la tua presenza costante, questo percorso sarebbe stato sicuramente più difficile. Ti devo una Monster... o forse più di una.

A Mara, conosciuta da poco ma già incisa nel mio cuore. Tra bruciature dei cestelli delle patatine e sushi all'impazzata, riesci sempre a rallegrare le giornate con il tuo sorriso e il tuo ottimismo, anche quando ci verrebbe voglia di insultare ogni cliente che ci capita davanti. Grazie per la leggerezza e la compagnia che porti, che rendono i momenti più impegnativi decisamente più divertenti e memorabili. Ti voglio bene.

Nuove persone sono entrate nella mia vita e, anche se sono ancora in fase di "prova" (ahah), sono già qui accanto a me e hanno trovato un posto nel mio cuore, festeggiando insieme a me questo traguardo.

Parlando infine di cose belle, a Davide Matteo Severino devo tutto.

Da più di sei anni condividiamo tutto: le cose belle, le cose difficili e tutte quelle giornate in cui io partivo con “non ce la faccio”, e tu, senza fare grandi discorsi, riuscivi a tenermi in piedi.

Sei diventato la mia costante, la mia certezza più grande e la mia più bella abitudine.

Ci siamo conosciuti quando ancora eravamo entrambi "bambini", abbiamo imparato tante cose insieme: a crescere, cambiare e affrontare la vita.

Quando tutto sembrava crollare, tu sei sempre rimasto, nonostante i miei errori e difetti.

Non sei stato parte attiva della tesi (si lo so, non fa per te), ma sei stato presente in un altro modo, che vale molto di più: nei miei pianti, nei miei crolli, nelle serate in cui sembrava che bastasse una parola storta per farmi esplodere (anche senza "sembrava").

E tu invece eri lì, in silenzio a lasciarmi sbollire, o almeno ci provavi.

Grazie per aver avuto pazienza quando io non ne avevo per niente.

Grazie per avermi lasciato i miei tempi, per non aver mai fatto pressione, per avermi lasciato piangere quando serviva e per aver saputo farmi ridere quando non ci riuscivo da sola.

E grazie, soprattutto, per quel tuo modo di esserci che non fa rumore: non sei uno dai grandi discorsi o da gesti da film romantici, ma sei quello che arriva quando sto cedendo, che mi appoggia una mano addosso e mi fa ricordare che non devo fare tutto da sola.

Sei stato quello che mi ha visto studiare fino a tardi, quello che ha sopportato i miei sfoghi infiniti sugli esami, sui voti, sulle paure e sulle paranoie che solo io riuscivo a crearmi.

Sei stato quello che mi ricordava, anche senza dirlo apertamente, che il mondo non finiva per un esame andato male o per un momento di sconforto.

In un modo tutto tuo mi hai insegnato a ridimensionare le cose, a respirare quando la testa correva troppo avanti e a ricordarmi che, anche quando io non ci credevo più, qualcuno continuava a credere in me, giusto?.

E forse è proprio questo il tuo modo di amare: esserci davvero, senza fare rumore, senza chiedere niente in cambio, ma restando sempre lì quando ne ho più bisogno.

Se sono arrivata fin qui, anche se non hai mai toccato un foglio di questa tesi, una parte è merito tuo.

Perché in ogni mio “non ce la faccio”, tu sei stato il motivo per cui poi ce la facevo.

E se c'è qualcuno con cui questo traguardo ha davvero senso di essere condiviso, quello sei **tu**.

Questo traguardo non è solo una tesi: è la somma di tutte le persone che mi vogliono bene, di tutti i momenti difficili che ho superato e delle versioni di me che ho lasciato indietro per diventare quella che sono oggi.

E infine voglio ringraziare me stessa.

Perché, diciamocelo, non è stato facile.

Per tutte le volte in cui ho pensato di non farcela, per ogni foglio buttato, ogni appunto sparso sul tavolo e ogni pianto disperato dentro la macchina beh, ce l'ho fatta lo stesso.

Per tutte le volte in cui volevo mollare e non l'ho fatto.

Per le corse contro il tempo, per i “non ce la faccio” trasformati in “ce l'ho fatta”, per ogni pagina studiata quando avrei preferito dormire.

Spero di ricordarmelo ogni volta che penserò di non essere abbastanza.

Grazie a me per la pazienza che non credevo di avere, per la determinazione che a volte ho dovuto strapparmi a forza e per la capacità di rialzarmi ogni volta che pensavo fosse impossibile.

Grazie per aver sopportato ansie, notti insonni, “non ce la faccio” e Monster infinite.

E soprattutto, grazie per non aver mai smesso di provarci, anche quando tutto sembrava andare storto.

Questa tesi è il risultato del mio impegno, delle mie cadute e dei miei piccoli miracoli quotidiani.

E, alla fine, posso dirmelo: non sarà il massimo, ma ce l'ho fatta, e ne sono fiera.