

# **INTOSSICAZIONE DA CARBAMMATI NEL CANE: OSSERVAZIONI IMMUNO-ISTOCHEMICHE E RILIEVI TOSSICOLOGICI**

Perillo A., Luppi A.

Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari.

## **INTRODUZIONE**

Per pesticida, secondo il gruppo di lavoro della Federal Environment Pesticide Control dell'O.M.S. s'intende "una sostanza o una miscela di sostanze atte a prevenire, distruggere, allontanare o attenuare qualsiasi avversità (insetto, nematode, fungo, erbe nocive ed altre forme di piante terrestri ed acquatiche, sia di vita animale o di virus batteri o altri microrganismi al di fuori di quelli che colpiscono l'uomo o gli altri animali viventi) e qualsiasi sostanza o miscela di sostanze usate come influenzanti la vita delle piante, compresi i defoglianti e gli essiccanti".

In Italia al termine di pesticida di origine anglosassone viene preferito quello di fitofarmaco o, sebbene più limitativo, quello di antiparassitario. La loro immissione nell'ambiente rappresenta, quindi, una continua fonte di rischio polimorfa, quantitativamente ingente, che espone al pericolo di intossicazioni acute o croniche anche gravi l'uomo e molte specie animali, non solo quelle confinabili al mondo agricolo rurale, ma investendo pure gli animali dell'ambiente urbano, dove i casi di intossicazioni da insetticidi, non sono del tutto infrequenti da registrare. Lo studio delle intossicazioni da pesticidi, dolose o accidentali, negli animali d'affezione e in particolare nel cane costituisce pertanto un capitolo della patologia veterinaria importante, complesso e sempre attuale. In un simile rischio connesso all'uso dei pesticidi si inserisce la presente nota, intesa a descrivere due episodi di intossicazione acuta da noi osservati a distanza di circa un mese l'uno dall'altro, su due cani boxer, madre e figlia, appartenenti allo stesso proprietario e che vivevano in un ambiente rurale, intossicati da methomyl (S-metil N-meticarbomoil-ossi tioacetimidato) meglio conosciuto con il nome di Lannate (Lannate 25, Terlate), un carbammato eterociclico, appartenente alla V classe dei presidi sanitari, usato prevalentemente come insetticida.

Il methomyl risulta essere ugualmente tossico per inalazione, per contatto con le mucose, buccale, nasale, congiuntivale e con la cute (DL50 pari a 1000 mg/Kg se la cute presenta delle escoriazioni). Dopo ingestione viene rapidamente assorbito nel tratto digestivo e la sua emivita, come per gli altri carbammati, è piuttosto ridotta. Nelle 24 ore successive all'assunzione, l'80-90% della dose ingerita è eliminata attraverso le urine. Il processo di assorbimento attraverso l'apparato digerente può essere più o meno rapido a causa della possibile formazione di composti insolubili o di degradazione, l'insorgenza e l'intensità di vomito e diarrea è in relazione all'integrità funzionale del fegato, organo principalmente interessato alla sua metabolizzazione.

L'azione tossica del methomyl consiste in una inibizione dell'enzima acetilcolinesterasi responsabile della degradazione dell'acetilcolina, il neuromediatore del sistema nervoso parasimpatico. L'acetilcolina, non più distrutta, si accumula a livello delle sinapsi nervose, provocando una stimolazione esagerata dei recettori colinergici.

E' venuto alla nostra osservazione il caso di due cani di razza boxer di sesso femminile, con età di 3 e 1 anno (rispettivamente madre e figlia), deceduti a distanza di un mese l'una dall'altra. Il proprietario aveva richiesto che sui due animali venisse eseguito un'esame autoptico, avanzando l'ipotesi che i cani fossero stati oggetto di avvelenamento dal momento che circa 40 giorni prima gli era morto improvvisamente anche un altro soggetto di 6 mesi necroscopicamente refertato dal Veterinario curante come quadro di cardiomiopatia dilatativa idiopatica, pur avendo presentato anamnesticamente andatura vacillante, decupito apatico, disturbi respiratori, inappetenza e scialorrea. Dei due soggetti venuti alla nostra attenzione, la madre era stata trovata morta dal proprietario nella campagna circostante la propria abitazione, senza che questi potesse osservare alcun sintomo intra vitam nell'animale. La figlia, invece aveva manifestato, poco prima del decesso, una sintomatologia caratterizzata da tremori muscolari, dispnea, rigidità degli arti, scialorrea, inappetenza, miosi, pollachiuria e lacrimazione. I due animali si presentavano in buone condizioni generali di nutrizione e all'esame autoptico si metteva in evidenza il tatuaggio identificativo nel piatto interno della coscia destra senza rinvenire alcunché di anomalo all'esame esterno della cute. Estese macchie ipostatiche di color rosso vinoso si presentavano nelle regioni dei clivi. Sparse infiltrazioni emorragiche si evidenziavano a carico del sottocute, nelle regioni toraciche e addominali. Le mucose apparenti risultavano fortemente congeste. Nulla da rilevare alle parti molli che ricoprono il cranio che si presentava integro con la dura madre non aderente di aspetto e spessore normale: intensa la congestione meningo-encefalica.

Cervello, cervelletto, bulbo e ponte in sezione non rivelavano lesioni e si confermava la diffusa congestione. All'apertura della cavità toracica veniva repertato in entrambi i cadaveri la presenza di liquido siero-emorragico. Modesti versamenti nel cavo pericardico e in quelli pleurici. Il cuore aumentato di volume si presentava di aspetto globoso per sfiancamento del ventricolo destro con il miocardio piuttosto flaccido, congesto e con segni di miocardiosi. I polmoni espansi, di colorito rosso cianotico apparivano edematosi senza essere in preda a processi flogistici. Al taglio non si apprezzavano lesioni a focolaio, ma un'abbondante infiltrazione di liquido schiumoso, rossastro che diffondeva anche in bronchi e trachea. Tutti questi riscontri a livello di cuore e polmoni, risultavano più appariscenti nella cagna giovane rispetto al cadavere della madre. All'apertura della cavità addominale si rinveniva un limitato versamento siero-emorragico con sierosa peritoneale liscia, lucente e vasi mesenterici fortemente iniettati. Il fegato, congesto, aumentato di volume,

evidenziava in superficie minute aree giallastre sparse, di aspetto distrofico, particolarmente evidenti (0,5-1 cm di diametro) nell'animale giovane che venivano confermate anche alla sezione di taglio. La cistifellea appariva ripiena di bile fluida color giallo-verdastro. Fenomeni di congestione erano evidenti nei due animali a carico della milza discretamente megalica, che al taglio presentava la polpa rossa ben trattenuta, i follicoli malpighiani e la trabecolatura poco appariscente. Nulla di patologico, macroscopicamente visibile a carico del pancreas, tranne un'intensa congestione. Lo stomaco dilatato era pieno di materiale alimentare indigerito asciutto, rappresentato da penne, piume, zampe di volatili (verosimilmente tacchinotti) nella madre, mentre nello stomaco della figlia si rinveniva analogo contenuto, sempre ricco di piume ma abbastanza fluido. A livello intestinale, il tenue si presentava vuoto, mentre il grosso intestino evidenziava feci poltigliose bruno-verdastre senza rinvenire masse fecali formate. I reni apparivano congesti, di consistenza e volume normali, facilmente scapsulabili. Al taglio non si apprezzavano lesioni. Anche le surrenali risultavano congeste senza manifestare almeno macroscopicamente alcunché di patologico. La vescica non conteneva urina e non evidenziava fenomeni patologici. Da segnalare che nella carcassa della madre più manifesti apparivano i fenomeni autolitici a livello parenchimale, dal momento che l'esame necroscopico è stato effettuato circa 72 ore dopo la morte della cagna.

## MATERIALE A METODI

Eseguite le necrosco pie si provvedeva ad effettuare prelievi di porzioni di organi (polmone, rene, fegato, milza, surrenale, pancreas, encefalo e midollo spinale) per effettuare indagini istopatologiche, seguendo le comuni tecniche di fissazione (formalina al 10%), di paraffinazione e di colorazione (PAS, ematossilina-eosina, Van Gieson, Luxol Fast blue) ed indagini immunoistochimiche solo su campioni di midollo spinale, previamente congelati in isopentano preraffreddato, utilizzando un anticorpo monoclonale specifico biotinilato anti-acetilcolintransferasi (anti-ChAT, clone 11-255 Boehringer Mannheim), visualizzato con il complesso ABC-perossidasi, seguendo la metodica ottimizzata dalla casa produttrice. Considerato il sospetto di intossicazione da fitofarmaci, ed in particolare da insetticidi organo fosforici o da carbammati si procedeva a prelevare in toto il materiale alimentare presente nello stomaco dei due soggetti, a raccogliarlo in due distinti sacchetti di plastica, per poi congelarlo a -18°.

## RISULTATI

I quadri morfologici osservati istologicamente sui campioni di organi prelevati, ripetevano globalmente con assoluta costanza gli stessi aspetti in tutti e due i casi. A livello polmonare l'esame microscopico rivelava aspetti di edema polmonare associati a fenomeni congestizi, confermando il

quadro macroscopico. In ambito epatico le sezioni allestite mostravano quadri di congestione associati ad aree in preda a distrofia ipossica epatocitaria. La PAS dimostrava scarsa reattività, particolarmente accentuata nella zona periferica del lobulo. Il rene, oltre all'aspetto congestizio, mostrava sofferenza glomerulare e fenomeni di degenerazione vaculare ed idropica a carico dell'epitelio tubulare, interessando prevalentemente la parte prossimale dei tubuli contorti e meno intensamente quella dei tubuli retti. Nel surrene gli aspetti osservati, al di fuori di una discreta congestione vasale, non presentavano particolari scostamenti dalla norma nell'aspetto cromatico e morfostrutturale. Anche nelle sezioni istologiche della milza e del pancreas non si rivelano apprezzabili differenze morfologiche rispetto alla norma, se non il prevalere di una condizione congestizia generalizzata. A carico dell'encefalo del midollo spinale nulla di particolarmente anomalo da segnalare se non quadri di congestione vasale diffusa.

Per quanto attiene l'esame del midollo spinale delle due cagne intossicate, la reazione immunistochemica è porsa sempre molto tenue e comunque decisamente inferiore a quella ottenuta nei controlli, utilizzando in quest'ultimo caso sezioni di midollo di cani morti per altre cause non coinvolgenti il midollo spinale. In alcune sezioni, sempre dei soggetti in esame, la reattività è stata quasi del tutto negativa. L'esame tossicologico sugli omogenati acidificati ed estratti con cloroformio risultava positivo per la presenza di carbammati eterociclici ed in particolare del methomyl (S-metil N-metilcarbamoil-ossi tioacetimidato) in entrambi. Più specificamente veniva osservata la presenza massiva di methomyl nel campione prelevato dallo stomaco della madre ed in tracce in quello della figlia. Data la natura chimica del gruppo attivo, il dato qualitativo, anche a detta del responsabile del Laboratorio di Tossicologia dell'Istituto di Medicina Legale del nostro Ateneo che ha eseguito le analisi, può essere considerato sufficiente per la formulazione di una corretta diagnosi di avvelenamento da methomyl, trattandosi di un tossico particolarmente potente (V classe). Negativa è risultata la ricerca di composti organo fosforici nei campioni esaminati.

## DISCUSSIONE

Nel contesto presente, sulla base delle valutazioni anamnestiche, sintomatologiche, necroscopiche, immuno-istochimiche, e tossicologiche si può con certezza diagnostica affermare che i due cani esaminati sono morti per intossicazione acuta da methomyl, un carbammato molto usato in agricoltura. Chiara ed evidente l'eziologia dell'avvelenamento riscontrato le cui modalità d'insorgenza sono da correlare al fatto che recentemente e a più riprese erano state poste in atto irrorazioni da methomyl nel frutteto confinante con il recinto in cui erano tenuti i cani. In tale terreno occasionalmente sono presenti anche alcuni tacchinotti sfuggiti alla sorveglianza del proprietario. Tali tacchinotti, si sono intossicati per esposizione diretta o verosimilmente per

ingestione del fitofarmaco, venendo ben presto a morte e risultando facile preda dei cani, voraci, che incidentalmente sono transitati nel frutteto. I cani dopo aver divorato i tacchini si sono a loro volta intossicati e sono deceduti.

A conclusione del nostro lavoro vogliamo sottolineare come i due casi di intossicazione acuta da methomyl descritti nei loro aspetti macro e microscopici e per le modalità con le quali si sono verificati assumono un certo interesse pratico per la scarsa documentazione in questo senso rilevata in letteratura ma soprattutto perché vuole richiamare l'attenzione e far riflettere sui rischi cui possono andare l'uomo e gli animali che vivono o transitano in vicinanza di terreni irrorati di recente con siffatti pesticidi.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Delaunois A., Lessire F., Fanal H., Ansay M., Bloden S., Gustin P., Intoxications au temik chez les animaux domestiques et sauvages: un problème alarmant en Wallonie. *Ann. Med. Vet.*, **141**:353-360, 1997.
2. Quick M.P., *Pesticide poisoning of livestock: A review of cases investigated*. *The Veterinary record*, **111**:5-7, 1982.
3. Rosenstein L.S. and Brice M.A., The use of toxicity studies to predict long term chronic effect resulting from the carbamate pesticide carbaryl. *European Soc. Toxicol. 17<sup>o</sup> Meeting Montpellier*, **17**:33-47, 1975.
4. Soffiotti M.G., Nebbia C., Carbammati, in Beretta E., *Tossicologia Veterinaria*, Ed. Grasso, 230-236, 1984.