

CARBONCHIO EMATICO

Bacillus anthracis

09-11-01
YOU CAN NOT STOP US.
WE HAVE THIS ANTHRAX.
YOU DIE NOW.
ARE YOU AFRAID?
DEATH TO AMERICA.
DEATH TO ISRAEL.
ALLAH IS GREAT.

4TH GRADE
GREENDALE SCHOOL
FRANKLIN PARK NJ 08852



SENATOR DASCHLE
509 HART SENATE OFFICE
BUILDING
WASHINGTON D.C. 20510

20510/4103 1st class



SPECIAL REWARD

Up to **\$2.5 million**



For information leading to the arrest and conviction of the individual(s) responsible for the mailing of letters containing anthrax to the New York Post, Tom Brokaw at NBC, Senator Tom Daschle and Senator Patrick Leahy:



**AS A RESULT OF EXPOSURE TO ANTHRAX,
FIVE (5) PEOPLE HAVE DIED.**

The person responsible for these deaths...

- Likely has a scientific background/work history which may include a specific familiarity with anthrax
- Has a level of comfort in and around the Trenton, NJ area due to present or prior association

Anyone having information, contact **America's Most Wanted** at **1-800-CRIME TV** or the **FBI** via e-mail at amerithrax@fbi.gov

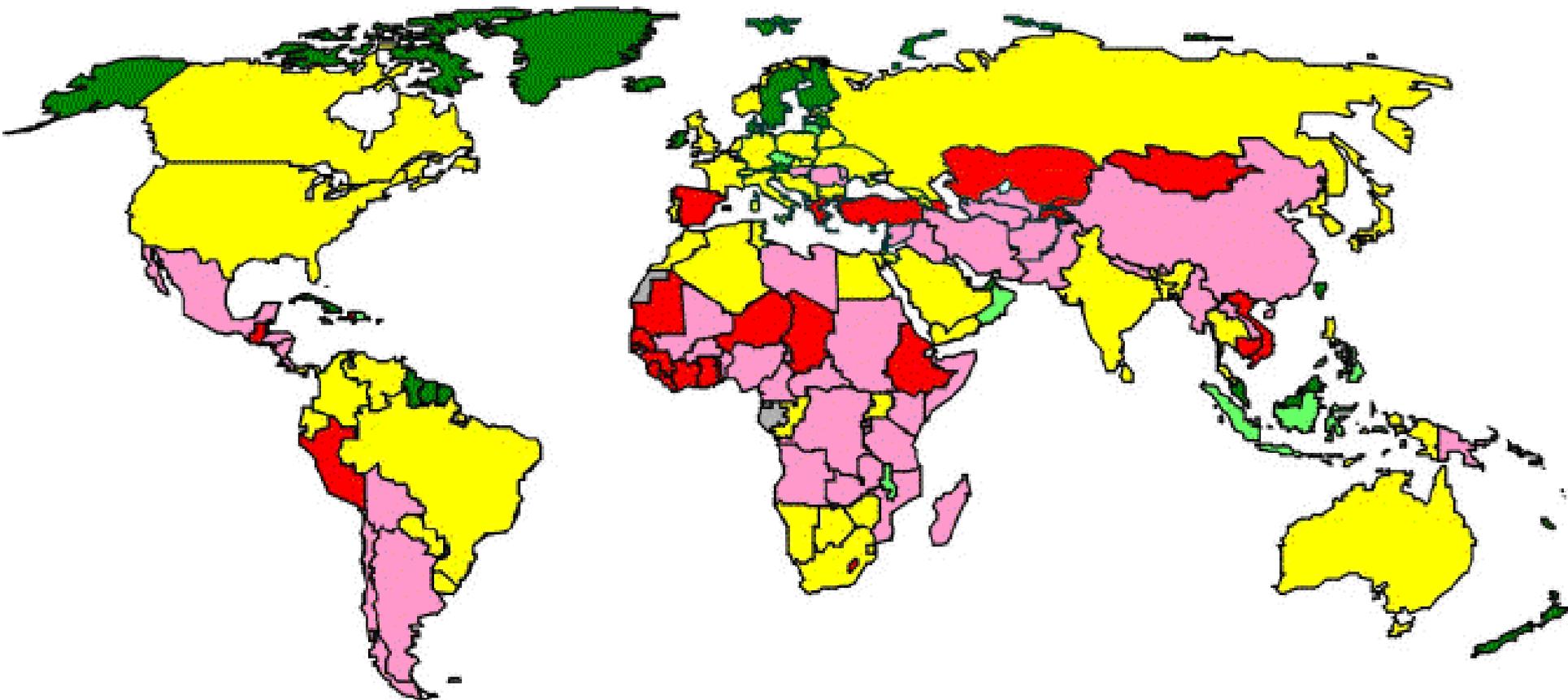
All information will be held in strict confidence. Reward payment will be made in accordance with the conditions of Postal Service Reward Poster 296, dated February 2000. Source of reward funds:
U.S. Postal Service and FBI \$2,000,000; ADVO, Inc. \$500,000.

CARBONCHIO EMATICO - Introduzione

- Malattia batterica a carattere setticemico
- Decorso prevalentemente iperacuto-acuto
- Colpisce erbivori, onnivori, Carnivori
- Insorgenza improvvisa ed esito fatale
- ZONOSI

Carbonchio ematico - storia

- ✓ Malattia descritta sin dall'antichità, originatasi probabilmente nel bacino del mediterraneo, diffusasi progressivamente con la domesticazione di ungulati selvatici in tutto il mondo.
- ✓ Nel 1876 Robert Koch ne ha descritto l'agente (*B. anthracis*), la sua capacità di formare spore, la coltivabilità in vitro, la riproduzione della malattia in seguito ad inoculazione con successivo isolamento dell'agente dagli animali morti.
- ✓ Prima malattia nei cui confronti è stato impiegato un ceppo attenuato per la preparazione di un vaccino (Pasteur, 1891)
- ✓ La sua importanza è diminuita con la messa a punto di un vaccino efficace (Sterne, costituito da spore da varianti acapsulate) e con l'impiego della penicillina nella terapia.
- ✓ Tuttora presente in diverse Regioni Italiane (vaccinazione).
- ✓ Casi segnalati nell'uomo (lavoratori della lana, concerie)



 **Endemico-iperendemico**

 **Probabilmente indenne**

 **Endemico**

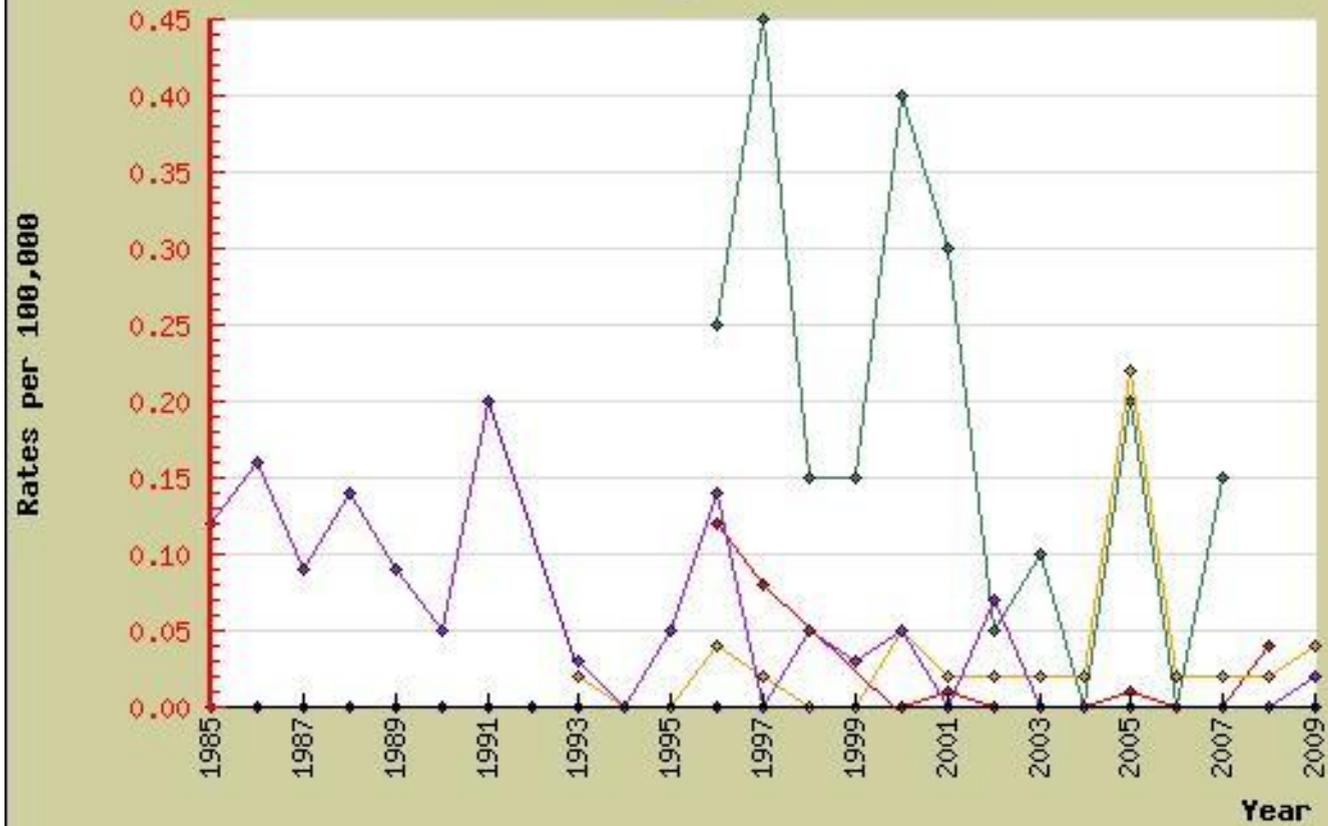
 **Indenne**

 **Sporadico**

 **Non noto**

20,000 to 100,000 cases estimated globally/year
http://www.vetmed.lsu.edu/whocc/mp_world.htm

Disease Comparisons - GIDEON



- ◆ Slovenia. Anthrax, cases (Rates per 100,000)
- ◆ Serbia and Montenegro. Anthrax, cases (Rates per 100,000)
- ◆ Macedonia. Anthrax, cases (Rates per 100,000)
- ◆ Croatia. Anthrax, cases (Rates per 100,000)
- ◆ Bosnia and Herzegovina. Anthrax, cases (Rates per 100,000)



In Campania and Basilicata regions in September 2011
23 outbreaks of anthrax were detected



N. outbreak	Municipality	Province	Region	Date confirmation	Bovine	Ovine	Cases (dead)	Destroyed
1	Montesano sulla Marcellana	SA	Campania	02/09/2011	150		5	5
2	Padula	SA	Campania	06/09/2011	56		1	1
3	Montesano sulla Marcellana	SA	Campania	09/09/2011	4		1	1
4	Montesano sulla Marcellana	SA	Campania	15/09/2011	34		1	1
5	Montesano sulla Marcellana	SA	Campania	22/09/2011	15		1	1
6	Montesano sulla Marcellana	SA	Campania	22/09/2011	9		1	1
7	Montesano sulla Marcellana	SA	Campania	22/09/2011		13	1	1
<u>TOTALE</u>					<u>268</u>	<u>13</u>	<u>11</u>	<u>11</u>

Outbreak	Municipality	Prov.	Region	Date confirmation	Bovines	Ovine	Goats	Equine	Clinical	Dead	Destroyed
1	Pietrapertosa	PZ	Basilicata	09/09/2011	9	80	80		10	10	10
2	Pietrapertosa	PZ	Basilicata	09/09/2011	104			21	5	5	5
3	Corleto Perticara	PZ	Basilicata	15/09/2011			44	1	1	1	1
4	Corleto Perticara	PZ	Basilicata	09/09/2011				19	1	1	1
5	Corleto Perticara	PZ	Basilicata	13/09/2011	12	20		21	1	1	1
6	Corleto Perticara	PZ	Basilicata	09/09/2011	27				4	4	4
7	Corleto Perticara	PZ	Basilicata	12/09/2011	16	190	58	14	1	1	1
8	Pietrapertosa	PZ	Basilicata	17/09/2011	6	10	20	1	1	1	1
9	Accettura	MT	Basilicata	20/09/2011	5				1	1	1
10	Cirigliano	MT	Basilicata	21/09/2011	23				1	1	1
11	Accettura	MT	Basilicata	20/09/2011	1			1	1	1	1
12	Corleto Perticara	PZ	Basilicata	19/09/2011		127			1	1	1
13	Pietrapertosa	PZ	Basilicata	27/09/2011	63				1	1	1
14	Corleto Perticara	PZ	Basilicata	29/09/2011	55				1	1	1
15	Pietrapertosa	PZ	Basilicata	27/09/2011	6	181	31	1	1	1	1
16	Pietrapertosa	PZ	Basilicata	27/09/2011	8	195	15	2	1	1	1
TOTALE					335	803	248	81	32	32	32



Control measures, as provided by current national rules (D.P.R. n 54/320), have been adopted: demarcation of infection zone (3 km radius); restrictions of animal movements; destruction of dead animals and vaccination of all susceptible animals. Outbreaks have been officially notified to OIE (with the exception of those confirmed last week)

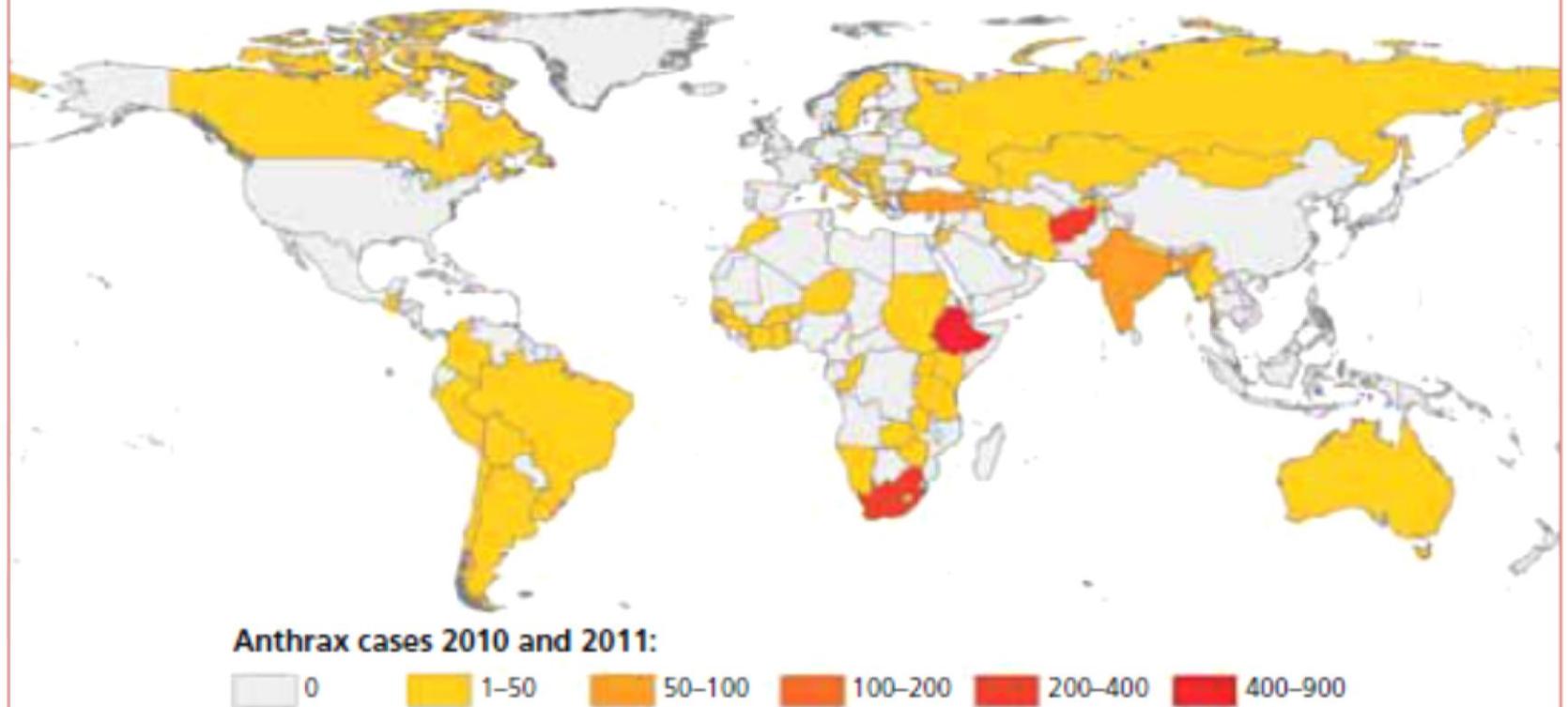


Direzione Generale
Sanità Animale e Farmaco Veterinario



Outbreaks in the marked areas periodically occur due to the persistence of the agent on the ground.

Figure 1: Anthrax outbreaks, 2010 and 2011



Source: OIE.

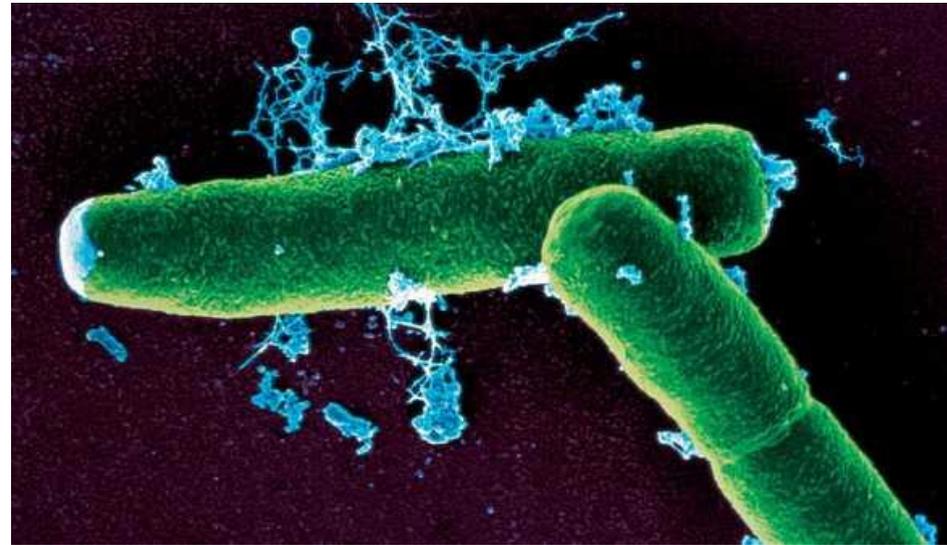
CARBONCHIO EMATICO - Eziologia

- Il gen. *Bacillus* comprende organismi saprofiti ad eccezione di
 - *B. larvae*: peste americana delle api
 - *B. alvei*: peste europea delle api
 - *B. anthracis*
- *B. cereus*, può causare tossinfezione alimentare nell'uomo e forme setticemiche

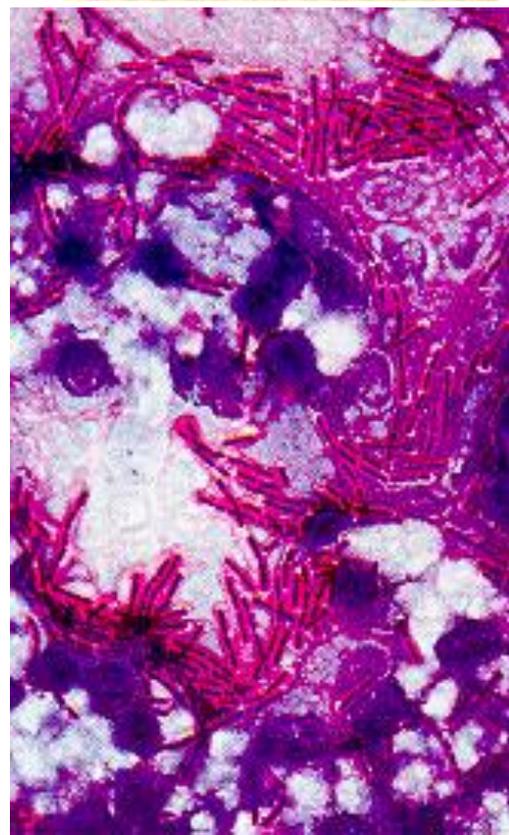
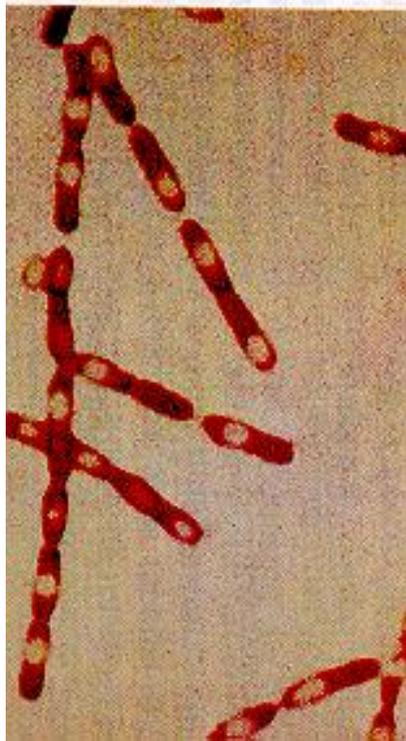
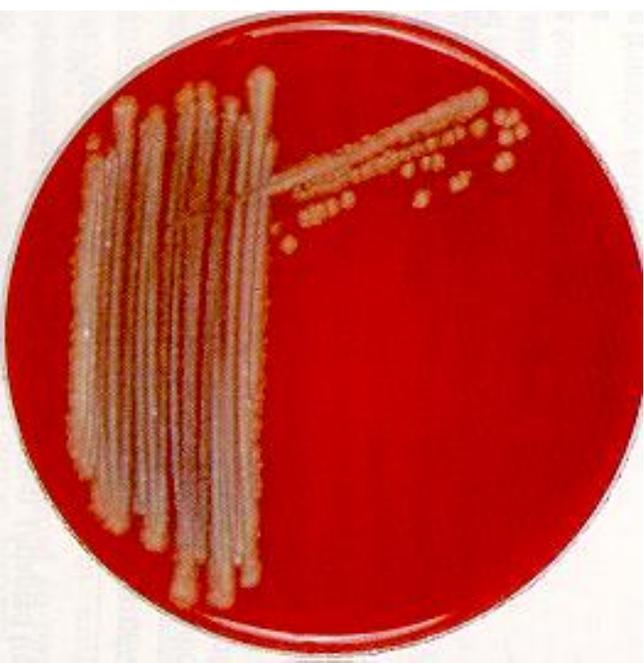
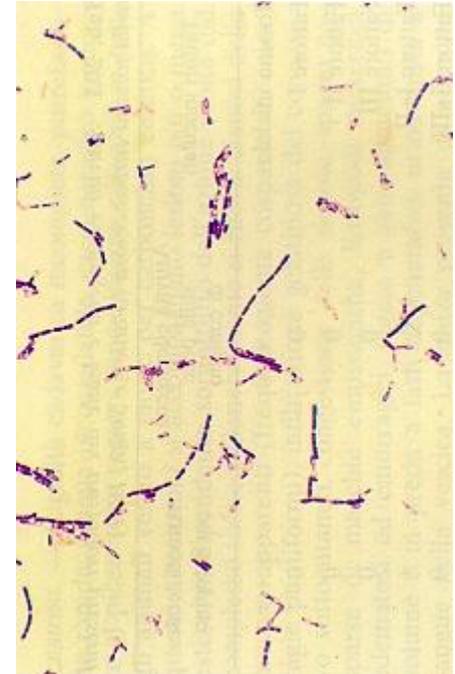
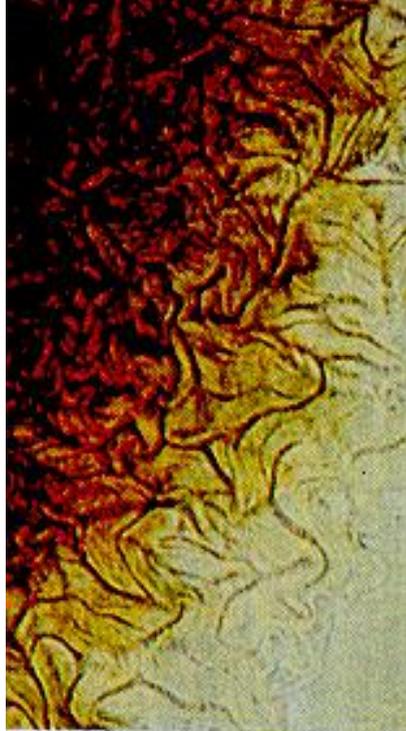
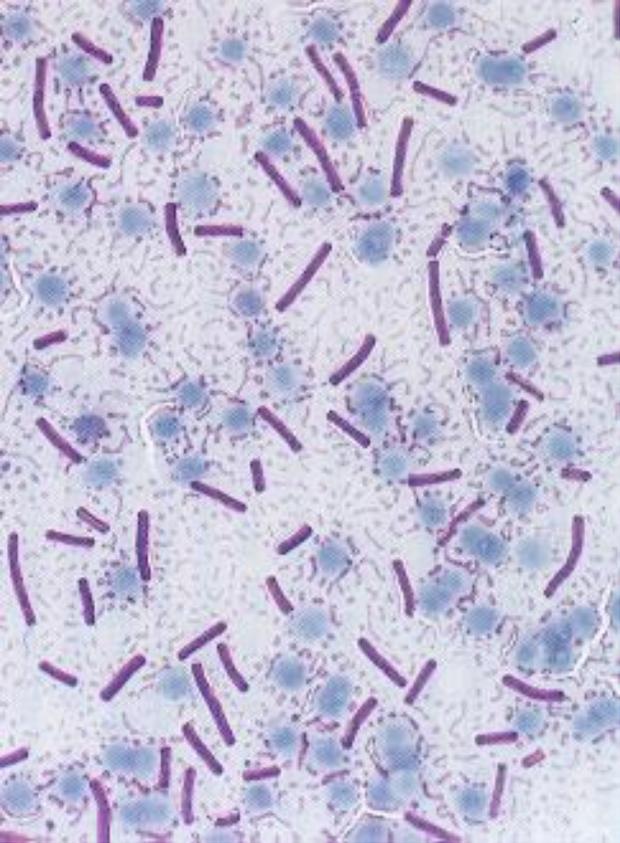
CARBONCHIO EMATICO - Eziologia

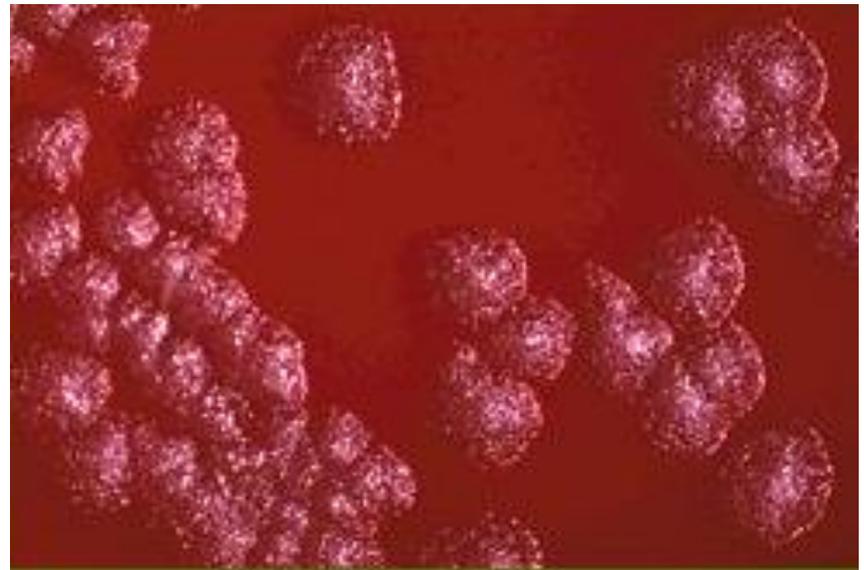
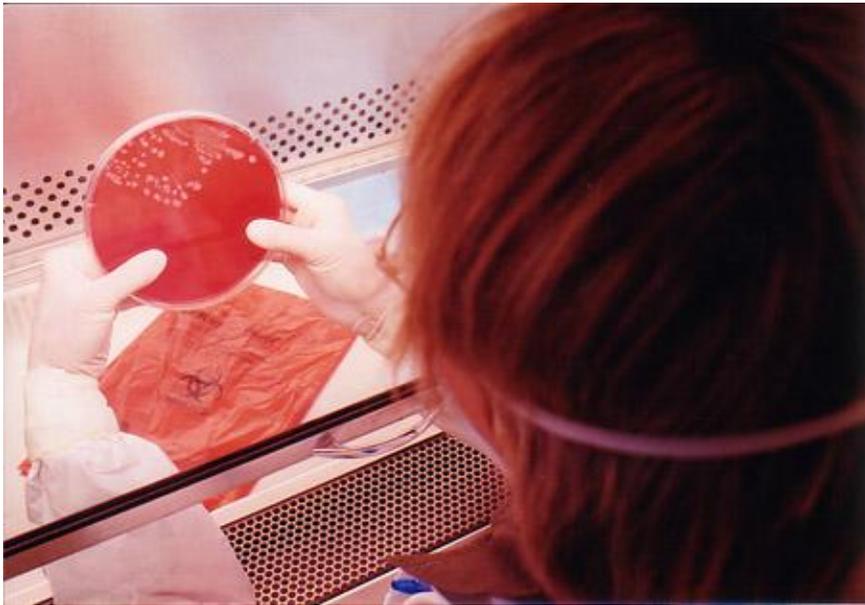
Bacillus anthracis

- ✓ Bacillo Gram +,
1-1,5 × 3- 10 μm,
Capsulato, immobile
Aerobio facoltativo

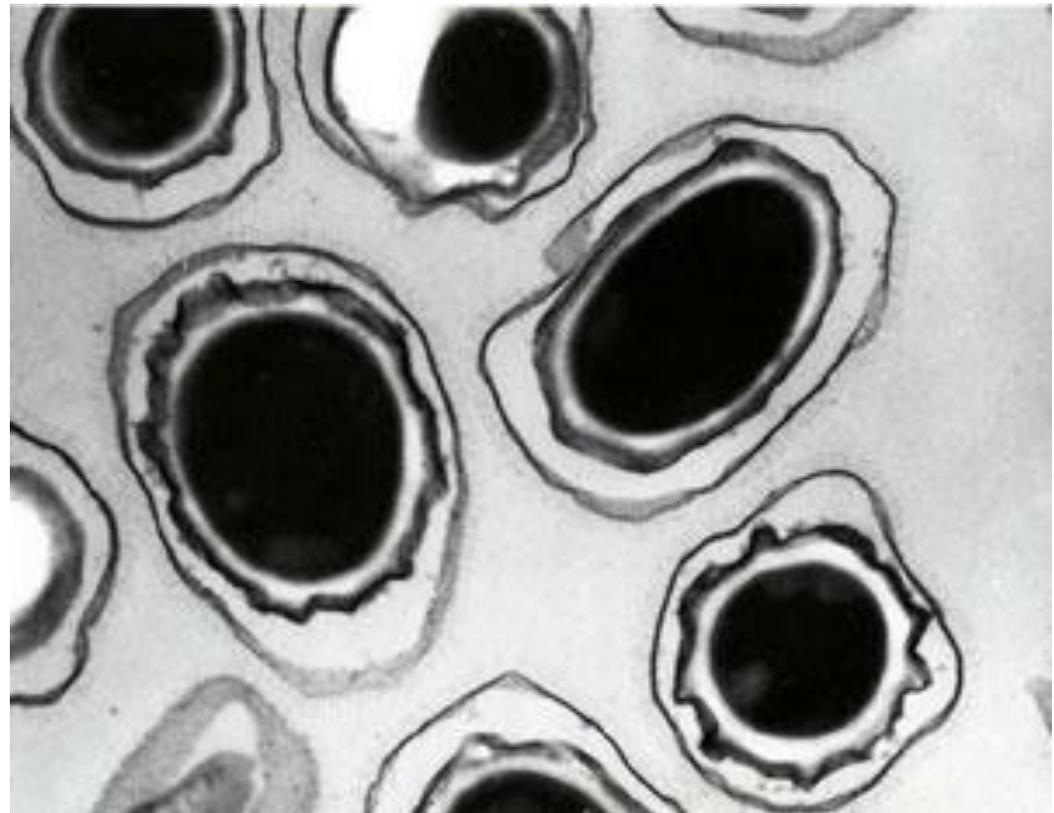
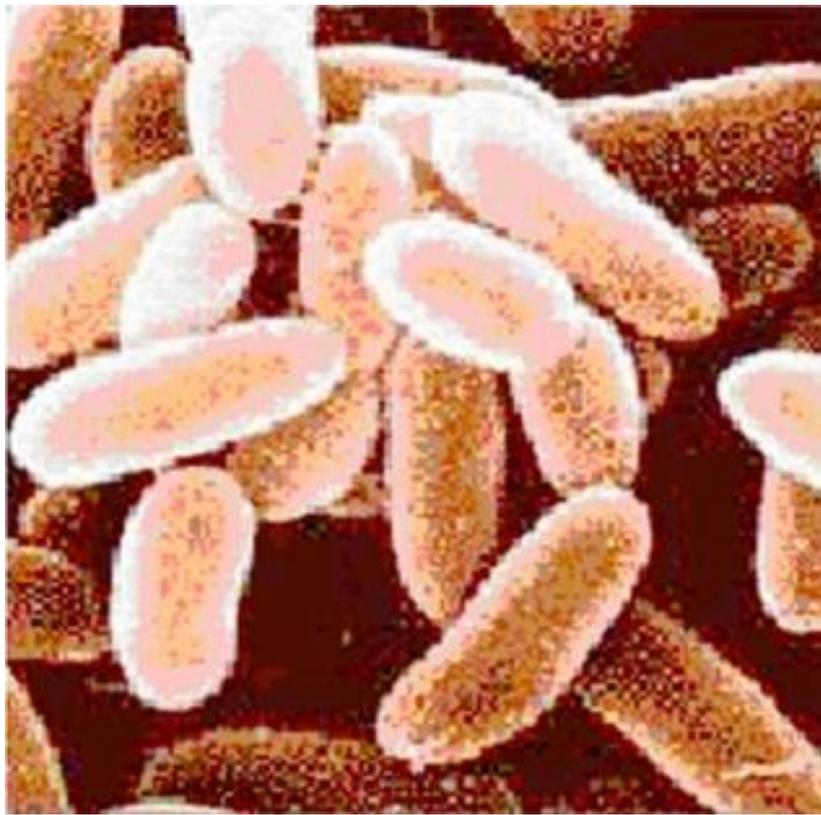


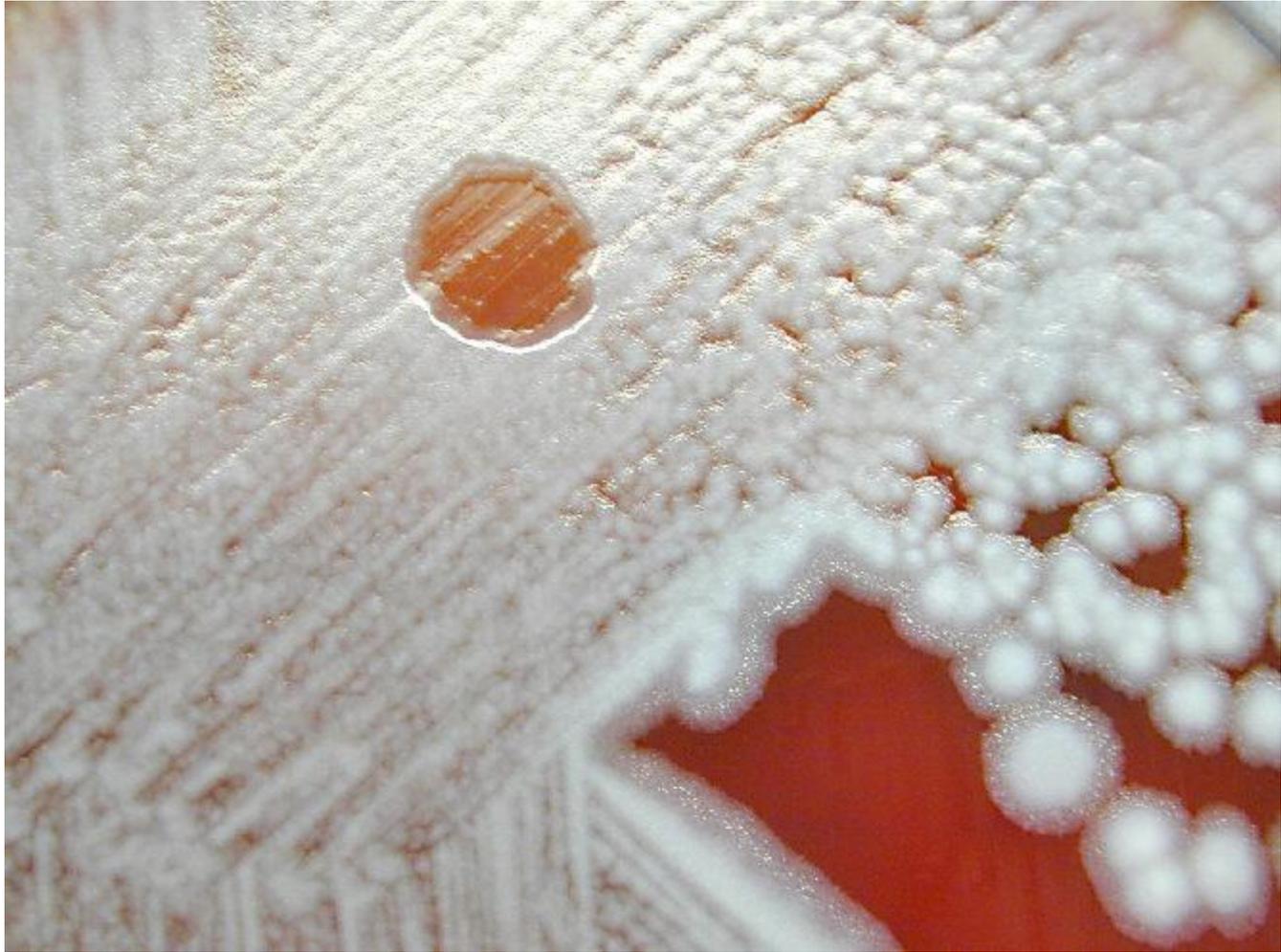
- ✓ Gram positività netta nei tessuti,
tende a perdersi in coltura con l'età
- ✓ Forma vegetativa poco resistente

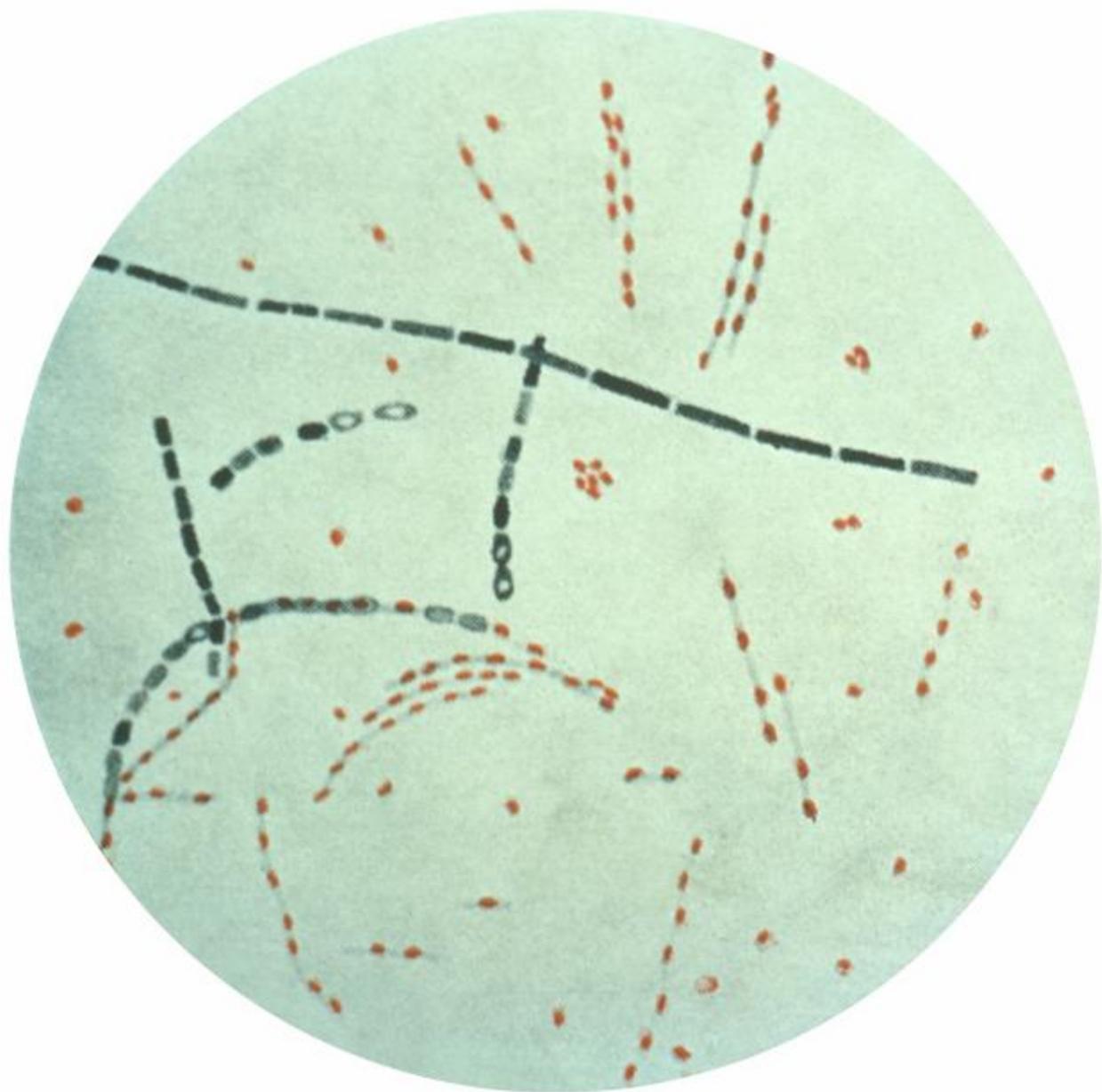












Bacillus anthracis

Patogenicità (associata alla presenza di plasmidi P χ 01, P χ 02) dovuta a :

- presenza dell'aggressina (antigene capsulare, polipeptide dell'ac. poli-D-glutammico): protegge dalle opsonine e dalla fagocitosi, inibisce la coagulazione
- produzione di una esotossina

Bacillus anthracis - esotossina

Tossina costituita da 3 fattori tossici:

- fattore protettivo (o immunogeno), proteico
- fattore edemigeno, glicoproteico (adenilato-ciclastasi)
- fattore letale, proteico

Presi separatamente non causano lesioni; prodotti in quantità variabile nei diversi ceppi → diversa patogenicità

Fattore protettivo + Fattore letale → letalità

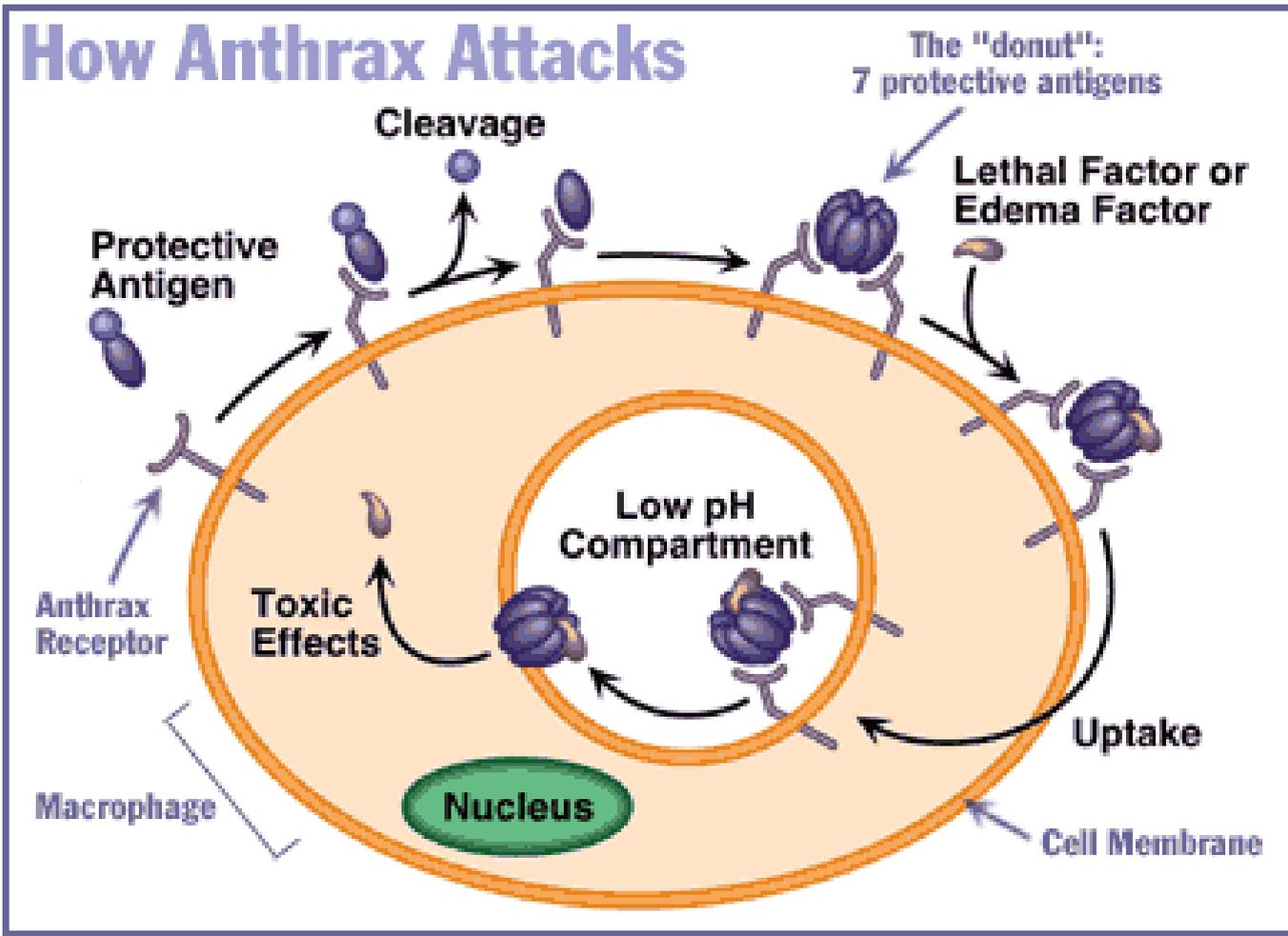
Fattore edemigeno + Fattore protettivo → edema

Fattore edemigeno + Fattore letale → apatogeni

Fattore edemigeno + Fattore protettivo + Fattore letale → edema, necrosi, letalità

La tossina ha una struttura A - B, con il fattore protettivo (B) che agisce da elemento che lega i fattori attivi (A) letale e edemigeno

How Anthrax Attacks

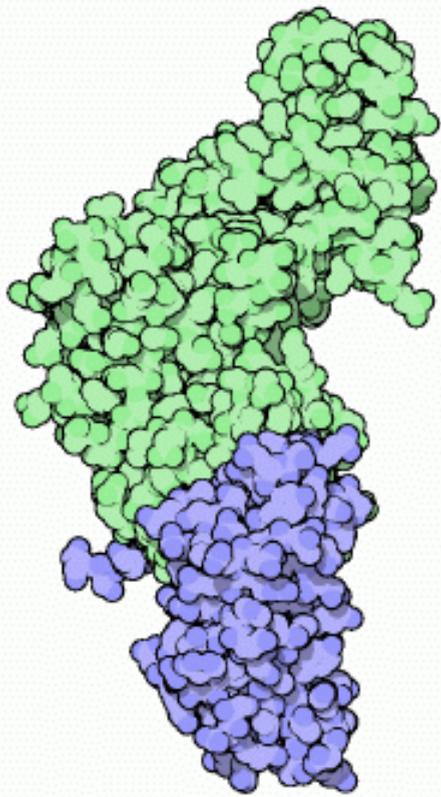


Le subunità (FP, FE, FL) sono sintetizzate separatamente, si legano poi tramite legami covalenti e in tale forma vengono liberate e si legano alle cellule dell'ospite.

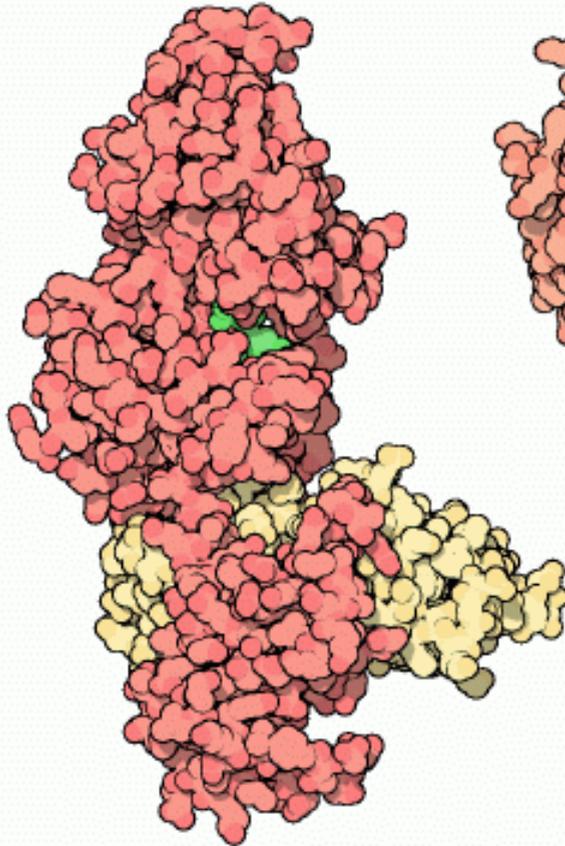
FP è attiva nel legare la tossina specificamente ai recettori cellulari, le subunità FL e FE hanno attività enzimatica ma da sole non sono in grado di penetrare nelle cellule

FE: aumento di AMP_c nelle cellule → aumento permeabilità delle membrana → edema

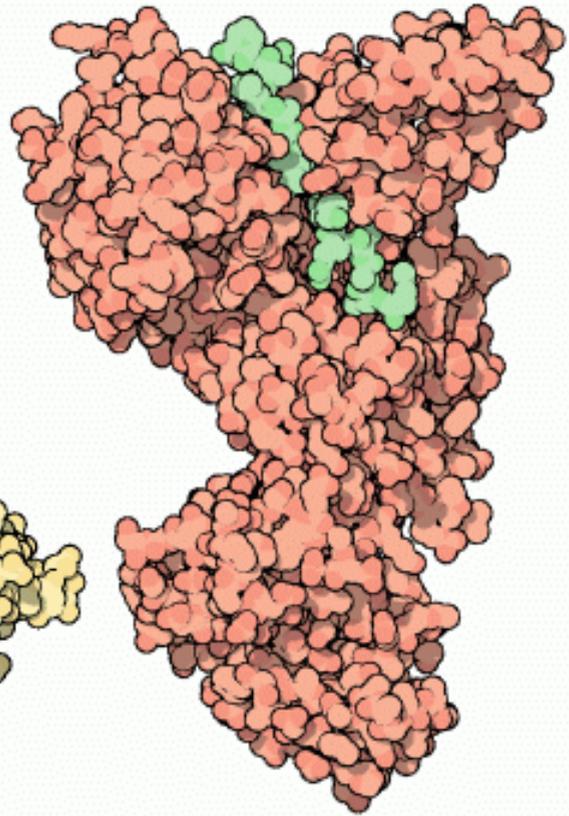
FL: azione citotossica non chiara. Induce produzione di linfocchine da parte di macrofagi e linfociti, inibisce l'azione di kinasi cellulari



FP



FE



FL



B. anthracis: Caratteristiche colturali

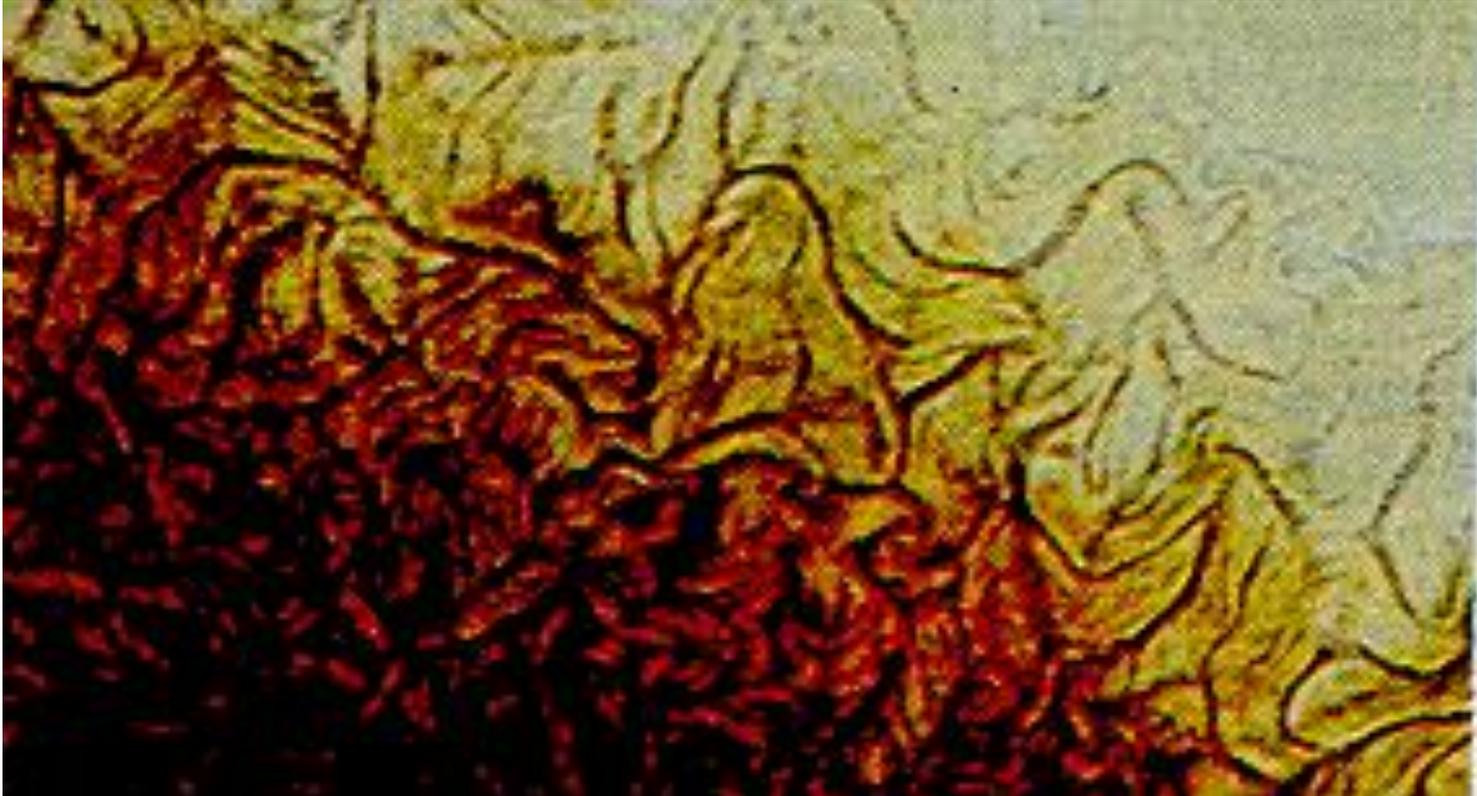
Sporulazione: quando le condizioni nutritive diventano sfavorevoli al di fuori dell'ospite, in presenza di ossigeno libero, con temperature tra 20°- 40°C, a pH 6. In coltura inizia alla fine della crescita logaritmica.

Aerobio

In agar - nutrient le colonie assumono l'aspetto a "Caput medusae"; in agar-sangue leggera emolisi

Variazioni genetiche: 1881 Pasteur ottenne un ceppo irreversibilmente non virulento dopo averlo coltivato per 2 settimane a 42°C

Ceppi patogeni: producono capsula e tossine in vivo. In vitro la capsula è prodotta solo in condizioni particolari (alta tensione CO₂, presenza di siero) gli stipti che non producono capsula sono apatogeni



B. anthracis - Resistenza

Forma vegetativa scarsamente resistente:

- ✓ in carcasce NON aperte non oltre 3 gg. (a 25 - 30 °C);
- ✓ nel midollo 7 gg.; nella pelle 14 gg.
- ✓ a T più basse i tempi si allungano, ma la sporulazione non avviene (nei climi freddi si ha autolimitazione della malattia)

B. anthracis - Resistenza

SPORA:

- 10 min 100°C calore umido
- 2-3 ore 140°C calore secco
- ricercatori dell'Istituto Pasteur (1954) hanno riprodotto la malattia nella cavia con materiale raschiato da un vetrino colorato nel 1890 da Pasteur
- in Sud Africa da ossa umane datate ± 1700 sono state isolate spore infettanti
La germinazione avviene a 20 - 40 °C e UR > 80%

CARBONCHIO EMATICO - Epidemiologia

Se carcasse di animali infetti vengono aperte (anche fuoriuscita spontanea di sangue) si ha sporulazione e dispersione delle spore nell'ambiente (acqua, animali saprofiti, insetti)

la sopravvivenza della spora è condizionata da vari fattori:

- Carica, umidità, pH, attività di altri organismi nel terreno.
- pH: terreni neutri o leggermente alcalini, ricchi in N e Ca facilitano la sopravvivenza della spora; terreni argillosi a reazione acida non la consentono per tempi lunghi

CARBONCHIO EMATICO - Ospiti recettivi

In condizioni naturali sono recettivi: bovini, ovi-caprini, camelidi, ruminanti selvatici, elefanti, giraffe, equini, suini, carnivori, struzzi, rapaci e uomo

le variazioni di recettività dipendono anche dalle caratteristiche anatomiche e fisiologiche (dentatura, pH ruminale, necrofagia, tipo di alimento). Erbivori più suscettibili, cane e suino meno.

Gli uccelli sono resistenti (con qualche eccezione) alla malattia ma possono essere vettori meccanici passivi (saprofagi)

Uomo: si infetta quasi sempre per contatto diretto o per
Via respiratoria (malattia professionale);
rara la via alimentare

CARBONCHIO EMATICO - Modalità di trasmissione

La fonte di infezione è rappresentata da terreno (reservoir), acque (contaminazione pozze, corsi, falde; reflui industria conciaria, laniera) o da animali morti;

rara la trasmissione meccanica tramite insetti, tabanidi in particolare;

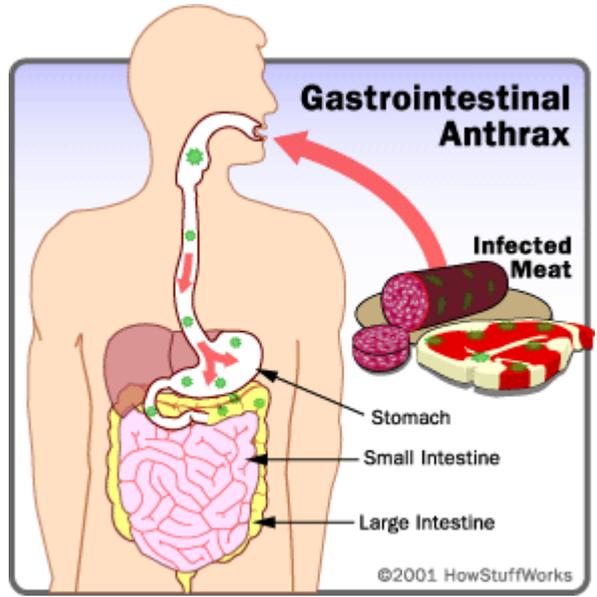
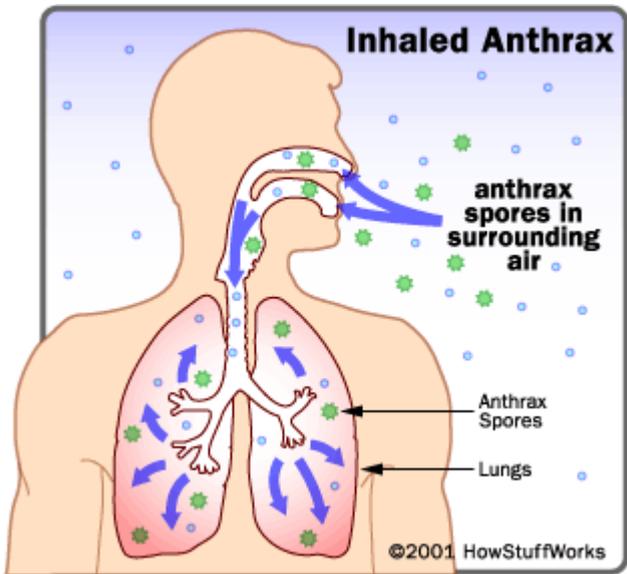
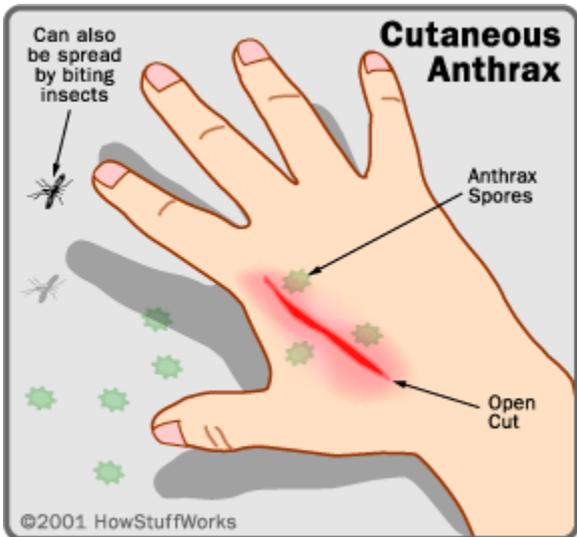
estremamente rara la trasmissione diretta animale malato - animale recettivo.

Ruolo di carnivori, insetti, uccelli: disseminazione

L'uomo si infetta quasi sempre per contatto diretto (via cutanea), manipolando materiale infetto

Via digerente erbivori ma anche uomo

Via inalatoria: uomo (lavorazione della lana, setole, peli)



CARBONCHIO EMATICO - Patogenesi

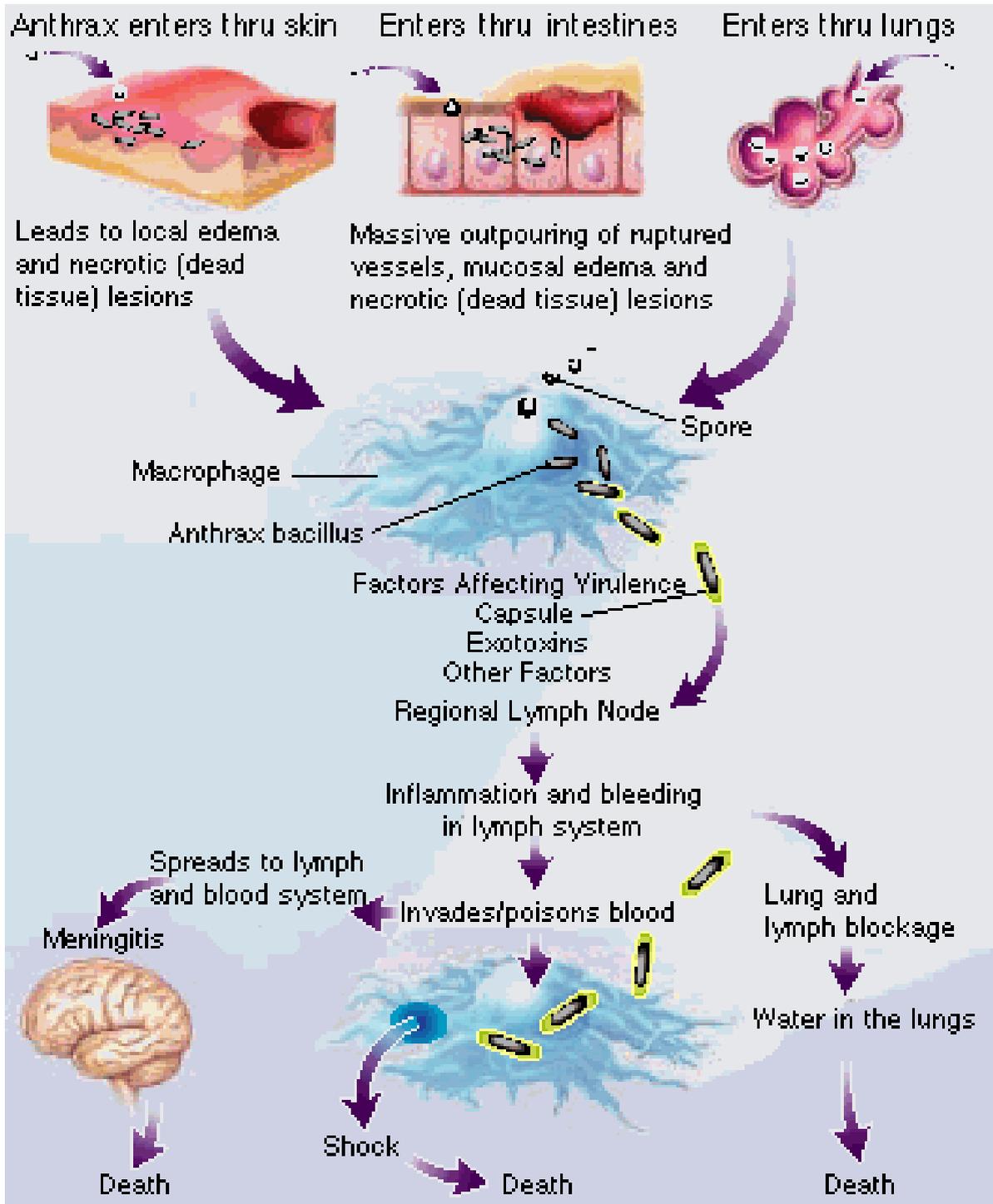
- Assunzione della spora *per os*, mediante alimenti o acqua
- penetrazione nella mucosa (generalmente orale, favorita da microtraumi) o cute non integra
 - ritorno alla fase vegetativa capsulata, con moltiplicazione e produzione tossina
 - lesione primaria (pustola maligna) con tessuto edematoso, cellule polimorfe, elementi mononucleati.
(se l'animale è resistente, suino ad es., l'infezione rimane localizzata a questo livello)
 - linfonodo afferente (replicazione)
 - circolo ematico linfatico (setticemia)
 - replicazione imponente nella milza
 - morte in 3-4 gg (causata dalle tossine) per insufficienza renale, respiratoria, shock, anossia del SNC.

CARBONCHIO - patogenesi

Il decorso della malattia è condizionato dalla resistenza dell'ospite, dal ceppo batterico, dalla dose infettante, dal sito e via di infezione. Sembra essere più importante la quantità di tossina circolante che non la concentrazione batterica, come dimostrato dall'inefficacia della terapia antibiotica dopo che il numero di batteri circolanti ha superato una certa soglia.

Tossina + Capsula: inibizione fagocitosi, aumento permeabilità vasi, inibizione coagulazione

- edema (polmoni, tutte le cavità), con difficoltà respiratoria e ipossia
- squilibri elettrolitici con irritabilità neuromuscolare
- aumento densità del sangue



CARBONCHIO EMATICO - Sintomatologia

Periodo di incubazione: 3-10 gg

Forma iperacuta (ruminanti): decorso: poche ore. Gli animali vengono rinvenuti morti senza sintomi premonitori. A volte convulsioni, brividi, tremori muscolari, dispnea, febbre, fuoriuscita di sangue da narici, bocca, genitali, ano

Forma acuta (ruminanti, equini): decorso: 3 gg. depressione, respiro frequente, mucose emorragiche, disturbi digestivi, diarrea emorragica, cessazione produzione latte, aborto, edemi al collo, torace, addome, ematuria.

Nel cavallo enterite colica, edemi.

Forma subacuta (suini, carnivori, talvolta ruminanti): decorso più lungo, seguito da morte o guarigione. L'infezione può dare setticemia (spesso fatale) o rimanere localizzata

CARBONCHIO EMATICO - sintomatologia

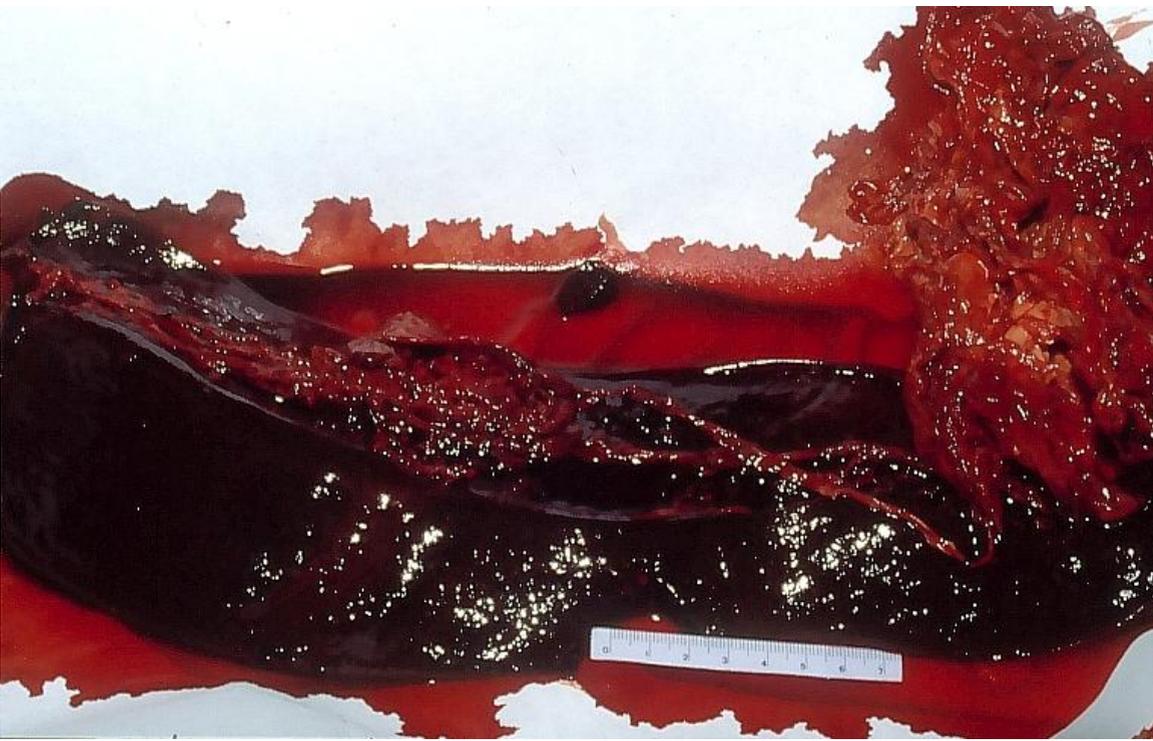
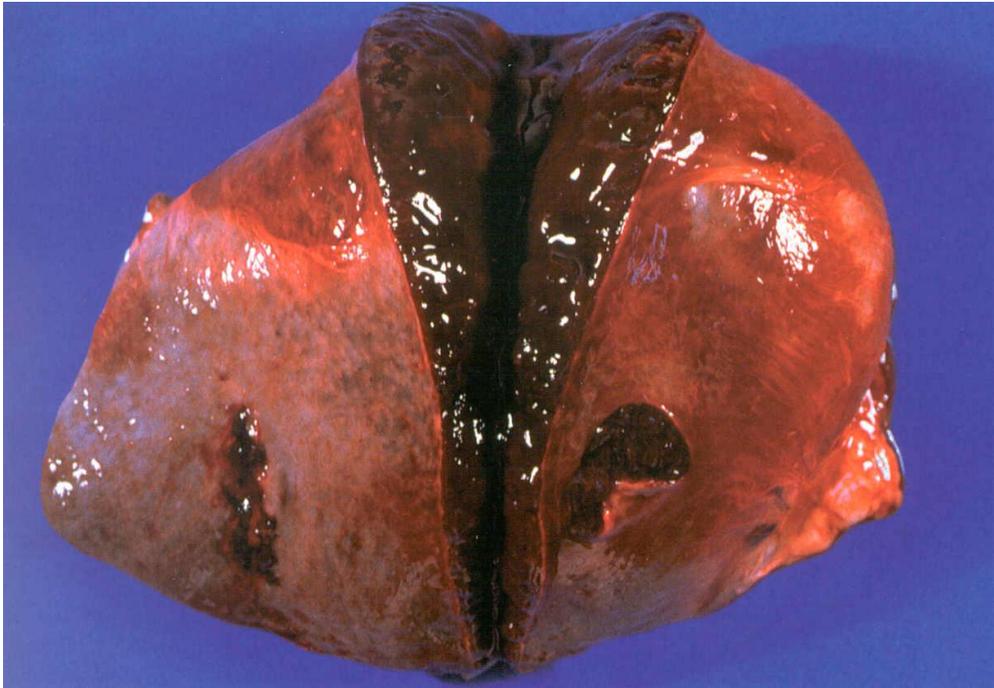
Nel suino si osservano 2 forme localizzate (ma anche la forma setticemica, meno frequente):

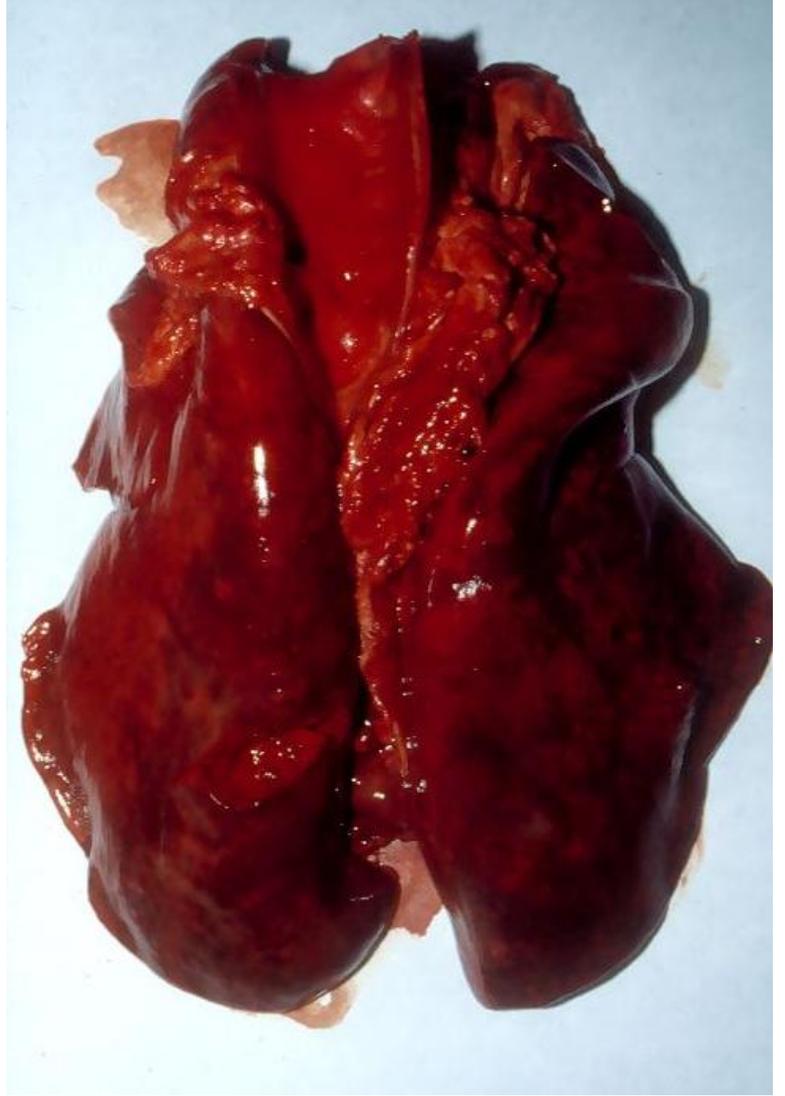
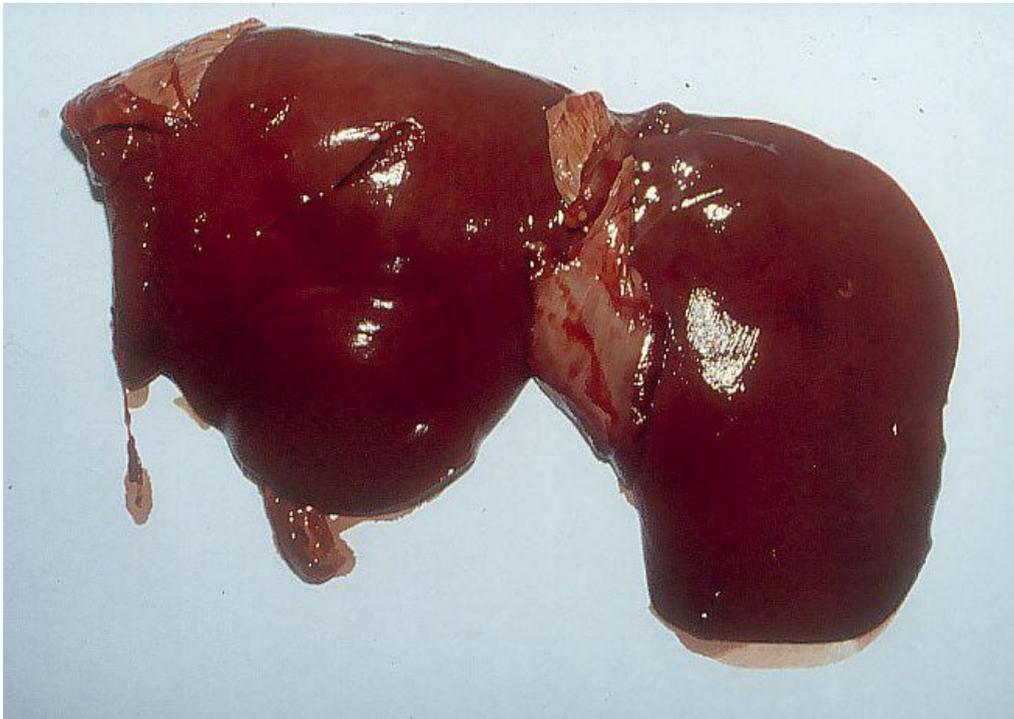
faringea: Caratterizzata da un interessamento delle tonsille e dei linfonodi regionali (retrofaringei) con edema imponente, sino a causare difficoltà di respirazione e di alimentazione, febbre

intestinale: disturbi digestivi acuti (vomito, diarrea emorragica)

Nei carnivori: gastroenterite acuta

Nell'uomo: Forma cutanea (pustola maligna), polmonare, intestinale









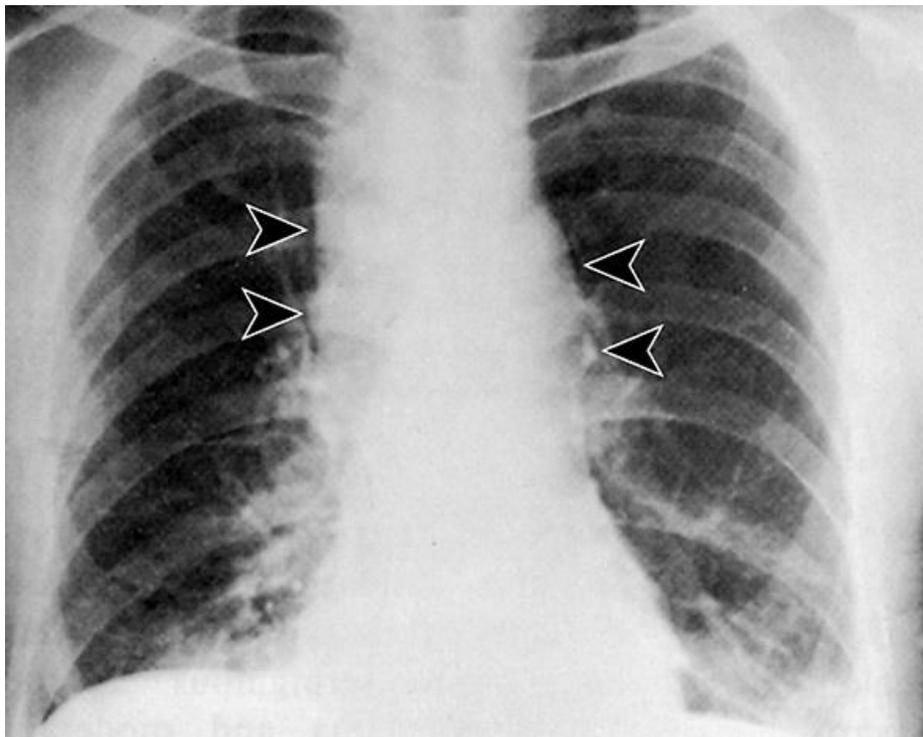








(c) University Erlangen.
Department of Dermatology
Phone: (+49) 9131- 85 - 2727



CARBONCHIO - lesioni

NON APRIRE LA CARCASSA IN CASO DI SOSPETTO

Il cadavere si decompone rapidamente, non presenta *rigor mortis*, si gonfia, sangue dalle aperture naturali

- sangue poco coagulabile, nero, piceo, catramoso
- emorragie estese a tutto il corpo, negli organi interni, nel pericardio, nelle mucose e nelle sierose
- parenchimi emorragici, degenerati
- milza aumentata di volume, di colore nero, polpa catramosa, liquefazione delle strutture spleniche (segno più caratteristico alla necroscopia, ma non in tutte le specie, ad es. pecora, cavallo, maiale)
- edema polmonare, del tratto gastro-intestinale, della zona faringea e del sottocute
- linfonodi edematosi e emorragici

CARBONCHIO -Lesioni

Altre lesioni meno frequenti:

- emorragie nella mucosa gastro-intestinale, soprattutto in corrispondenza delle placche del Peyer, sangue libero nel grosso intestino
- essudato sanguinolento dalla la pelle

✓ Nel suino deceduto in seguito a invasione primaria della mucosa faringea, la causa di morte può essere l'asfissia provocata dall'imponente edema di mucosa e sottomucosa del faringe e della glottide, accompagnato spesso da faringite e tonsillite necrotiche, pustola carbonchiosa nel sito di penetrazione, edema, emorragie, necrosi dei linfonodi regionali.

✓ Nei carnivori è caratteristica una grave infiammazione dei tessuti molli della testa, della lingua, del tratto gastro-enterico

CARBONCHIO: Diagnosi

- ✓ Anamnesi: zona carbonchiosa, animali al pascolo, stagione
- ✓ Aspetti clinici ed anatomo-patologici
- ✓ Diagnosi differenziale con tutte le malattie a carattere setticemico
- ✓ Diagnosi di laboratorio

CARBONCHIO: Diagnosi di laboratorio

Esame microscopico e batteriologico (cauterizzare il punto di prelievo). Nei primi stadi di malattia la presenza di *B. anthracis* nel sangue è scarsa (in modo particolare in alcune specie: Cavallo, maiale, Carnivori), subito dopo la morte dell'ospite la sua morfologia muta (degenerazione del citoplasma, distruzione della capsula). Oltre al sangue, se la carcassa è già aperta si possono utilizzare milza o linfonodi.

La crescita avviene in 24 - 48 ore su agar nutrient o terreni contenenti siero o sangue.

Esame batteriologico: importante per partite di farina di carne/ossa

CARBONCHIO EMATICO

diagnosi di laboratorio

Prova biologica su topo (sottocutanea o intraperitoneale) o cavia (sottocutanea o intramuscolo)

La sierologia non trova impiego nella diagnosi. (è anche disponibile una prova allergica sottocutanea “antracina”)

Termoprecipitazione di Ascoli: utile per l'evidenziazione di spore di *B. anthracis* anche in materiali seccati (ad es. pelli). Prevede l'impiego di un siero iperimmune su un estratto a caldo del materiale sospetto

CARBONCHIO EMATICO - Terapia

Associazione Penicillina / Streptomicina
ripetute a 12 h. per 3 trattamenti, poi a 24
h. per 5 giorni

Può essere utile nelle forme non iperacute,
purchè tempestiva, prima che la tossina
abbia raggiunto concentrazioni elevate.

Alla terapia antibiotica è utile affiancare
l'impiego di siero iperimmune

CARBONCHIO EMATICO - Profilassi

✓ Diretta

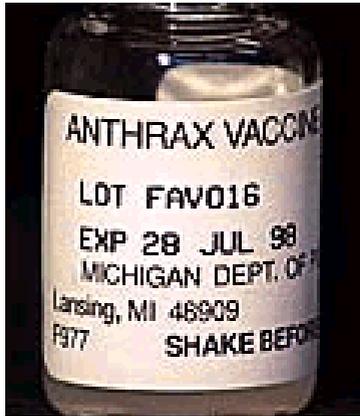
- Le carcasse non vanno aperte, ma incenerite, come anche sangue, escreti, materiale contaminato.

Disinfezioni

- denuncia obbligatoria: zona infetta
- isolamento malati
- certificato origine e sanità per l'importazione di farine di carne/ossa, pelli e lane da zone infette
- controllo batteriologico partite di importazione
- trattamento reflui di concerie, lanerie ecc...

✓ Indiretta: vaccinazione annuale, obbligatoria di animali che vanno al pascolo in Puglia, Campania, Basilicata, Calabria, Sicilia e Sardegna e altre aree

- Vaccino vivo attenuato ceppo 34F₂ (Sterne, 1937) a capsulato, (PX01⁺/PX02⁻), sporigeno.



CARBONCHIO EMATICO - Disinfettanti

Stalle: Soda caustica calda 10%; Formaldeide 4%, Glutaraldeide 2%; Ipoclorito di calcio 5%, Acqua ossigenata 7%. Doppia disinfezione (intervallo 2 h.), quantità: 1 l / m². Dopo l'intervento l'ambiente va tenuto chiuso per 3 h., poi ventilato.

Veicoli: Disinfettanti cresilici 3%

Indumenti: Formaldeide 4% per 4 h. o bollitura in lisciva per 90 min.

Prodotti animali: lana: formaldeide; pelli: acido cloridrico (2.5%) e sale (15%); setole, Crini: autoclavaggio (120 °C per 20 min.)

Farine di ossa/Carne: la legislazione impone 133 °C per 20 min. a 3 bar

Terreno: Formaldeide 4% in quantità di 5 l / m²; Soda caustica 10%, Ipoclorito di Ca 15% in quantità 10 l / m².

CARBONCHIO EMATICO - RPV (artt.114 - 119)

- ✓ **Vaccinazioni animali malati e a rischio**
- ✓ **Divieto utilizzo del latte di animali malati o sospetti**
- ✓ **Autorizzazione spostamento, nell'ambito della zona infetta, di animali sani a rischio**
- ✓ **Lotta contro le mosche**
- ✓ **Divieto macellazione animali malati e sospetti e di esecuzione su di essi di operazioni cruenti**
- ✓ **Macellazione di animali sani di allevamenti o pascoli sede di casi consentita trascorsi almeno 10 gg. dall'ultimo caso, dopo le disinfezioni**
- ✓ **Divieto di scuoiamento di animali morti di carbonchio, che vanno distrutti con idoneo trattamento. Foraggi, lettiere e altri materiali contaminati vanno bruciati**
- ✓ **Trasporto carcasse su mezzi autorizzati**
- ✓ **Permesso di uscita dalla zona infetta solo per animali sani**
- ✓ **Revoca provvedimento zona infetta almeno 15 gg. dopo l'ultimo caso di malattia**

CARBONCHIO EMATICO - RPV (artt. 56, 57)

Import da qualsiasi Paese di:

✓ Pelli salate o secche, budella e vesciche secche, cagli secchi, sangue, unghie, ossa e avanzi animali in genere allo stato secco, lane lavate, farine di pesce, grassi fusi per uso industriale, senza obbligo di certificato di origine e sanità, previo controllo sanitario

✓ Pelli, budella e vesciche in salamoia: certificato origine e sanità attestante che i prodotti sono stati sottoposti a salagione a umido per almeno 30 gg.

✓ Setole, crini, peli, piume, farine di carne, ossa e sangue: certificato origine e sanità attestante avvenuto trattamento di sterilizzazione