

Il ritorno del carbonchio. Dal bioterrorismo al focolaio zoonotico del distretto di Sciacca

The return of anthrax. From bioterrorism to the zoonotic cluster of Sciacca district

Francesco Scarlata¹, Pietro Colletti¹, Silvia Bonura¹,
Marcello Trizzino¹, Salvatore Giordano², Lucina Titone¹

¹Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute, Sezione di Malattie Infettive, Università di Palermo, Palermo, Italy;

²Unità Operativa di Malattie Infettive Azienda di Rilievo Nazionale e di Alta Specializzazione Ospedale Civico-Di Cristina-Ascoli, Palermo, Italy

INTRODUZIONE

Il carbonchio è una zoonosi da tempo eradicata o comunque sporadica nelle regioni a buon livello igienico-sanitario di conduzione degli allevamenti. Ancora diffusa è invece l'infezione degli erbivori e dell'uomo nei paesi in via di sviluppo. Prodotti animali importati da tali aree costituiscono pertanto un potenziale rischio.

Il carbonchio ha una rilevante importanza storica. È stata infatti la prima patologia ad essere attribuita ad uno specifico microbo ematico (Davaine, 1863). L'agente eziologico *Bacillus anthracis* (così chiamato per il colore antracite delle pustole cutanee) è stato il primo batterio di cui è stata descritta la trasformazione in spore (Koch, 1876). È stata infine la prima infezione animale ad essere combattuta con un vaccino (Pasteur, 1881).

Il carbonchio può colpire tutte le specie animali a sangue caldo. Sono particolarmente sensibili all'infezione gli erbivori domestici (bovini, ovini, caprini, equini). In questi animali l'infezione è quasi sempre di tipo setticemico ("carbonchio ematico") e molto spesso rapidamente letale.

Gli animali infetti eliminano grandi quantità di bacilli con i secreti e gli escreti. L'abbandono o l'interramento, spesso superficiale, delle carcasse contribuisce al rilevante inquinamento dei pascoli. Insetti, vermi terricoli e soprattutto acqua e vento favoriscono la disseminazione a distanza delle spore.

Infatti, mentre la forma vegetativa di *Bacillus anthracis* è poco resistente nell'ambiente esterno, le spore, che si formano al di sopra di 32°C, sopravvivono anche per decenni in terreni con particolari caratteristiche (elevato tenore in calcio e pH >6,1) [1, 2]. Le spore, inoltre, sono molto resistenti sia alle alte che alle basse temperature mentre risultano sensibili alla formaldeide [3].

Preparati di *Bacillus anthracis* fissati su vetrino e colorati contengono ancora dopo parecchi anni spore carbonchiose infettanti così come l'acqua di un ruscello è risultata ancora contaminata dopo 18 anni dall'ultimo caso nella zona [4]. Soprattutto durante la stagione calda, quando la vegetazione tende a scomparire e gli animali brucano in prossimità del terriccio, gli erbivori ingeriscono con grande facilità rilevanti quantità di spore che penetrano attraverso soluzioni di continuo delle mucose.

Dopo un periodo di incubazione di qualche giorno l'infezione si manifesta negli erbivori in forma apoplettica o comunque grave, con emissione di scoli ematici dai vari orifizi e contestuale compromissione degli organi vitali (mortalità tra il 70 ed il 100%).

Il carbonchio umano

La carica infettante è per l'uomo particolarmente elevata e l'infezione umana, anche in ambienti fortemente contaminati, è un evento infrequente. La trasmissione è quasi sempre conseguenza di contatto diretto con animali infetti o loro prodotti.

Il rischio è generalmente ristretto a pastori e contadini di aree endemiche, ma anche lavoratori tessili di aree indenni possono infettarsi per via transcutanea o inalatoria lavorando prodotti di importazione [5].

È stata documentata anche la trasmissione vettoriale o attraverso il contenuto di pustole carbonchiose umane [6, 7].

Il periodo di incubazione, generalmente di qualche giorno, è piuttosto variabile, come dimostrato dalle vittime del bioterrorismo del settembre 2001 e dalla contaminazione accidentale di Sverdlosk, ove in alcuni casi ha superato i 40 giorni [8].

È quindi ipotizzabile che la germinazione delle spore possa avvenire anche a distanza di settimane dalla penetrazione nell'uomo.

Nella quasi totalità dei casi l'infezione naturale si presenta nell'uomo sotto forma di *carbonchio cutaneo*.

Spore carbonchiose venute a contatto con cute abrasa si trasformano in forme vegetative sintetizzando i tre fattori proteici responsabili del danno locale e (nell'uomo assai di rado) sistemico (fattori edemigeno, letale e protettivo). Nel punto d'ingresso, generalmente agli arti superiori, si forma una papula indolente a rapida evoluzione vescicolare, circondata da edema. La vescicola tende ad allargarsi, il contenuto diventa scuro, infine dopo qualche giorno si rompe esitando in una ulcera di 1-3 cm ricoperta da escara nerastra, infossata rispetto al cerchione edemo-eritematoso circostante, spesso sede di un anello di piccole vescicole.

Coesistono generalmente febbre e adenopatia regionale. Esteso è l'edema perilesionale nelle localizzazioni al volto e al collo.

Dopo 2 settimane l'escara cade residuando una cicatrice [9].

Raramente si ha una evoluzione in *sepsi carbonchiosa*, quasi sempre ad esito letale per compromissione cardiaca, renale e meningoencefalica.

Assai raro nell'infezione naturale è il *carbonchio polmonare* da inalazione, caratterizzato da broncopneumonia emorragica con insufficienza respiratoria e sepsi, gravato da una mortalità che, pur nei casi prontamente e adeguatamente trattati dell'esperienza bioterroristica del 2001, è risultata superiore al 50%.

Ancor più raro il *carbonchio intestinale* da ingestione, con gastroenterite emorragica e complicanze d'organo o setticemiche spesso fatali.

La terapia antibiotica non sembra accelerare la guarigione della lesione cutanea ma riduce il rischio di sepsi.

Nei casi trattati la mortalità della forma cutanea scende dal 5-20% all'1% [9].

La diagnosi, quasi sempre possibile sulla scorta degli elementi clinici ed epidemiologici, viene confermata dall'osservazione microscopica e/o dalla coltura dello scarificato cutaneo.

Nello striscio da materiale di lesione si osservano bacilli Gram positivi ad estremità tronche disposti a palizzata e avvolti da una unica capsula. Diverso è invece l'aspetto microscopico da colture con l'intrecciarsi di catene di bacilli con morfologia di *caput medusae*.

Tuttavia la coltura, e meno frequentemente lo stesso striscio, risultano talvolta negativi, particolarmente in pazienti trattati con antibiotici [10]. Altre metodiche sono ancora di incerto valore predittivo (ricerca di anticorpi sierici, antigeni, acidi nucleici).

Bacillus anthracis e bioterrorismo

Il carbonchio può essere considerato come il prototipo di arma batteriologica e come tale è stato studiato (ma non impiegato) durante la seconda guerra mondiale.

La ricerca concernente le armi biologiche offensive, cessata negli Stati Uniti dal 1969, è fuori legge in tutto il mondo dal 1972 (*Biological and Toxin Weapons Convention Treaty*).

In realtà sia la ricerca in materia che la conservazione di spore carbonchiose è proseguita dopo tale epoca non solo ad opera di "stati canaglia" talvolta collegati ad organizzazioni terroristiche ma anche della stessa Unione Sovietica, nella cui città di Sverdlosk (sede di un laboratorio biologico governativo) si è verificata nel 1979 una massiccia contaminazione atmosferica di spore carbonchiose. Dopo un periodo di incubazione di 2-43 giorni si ammalarono almeno 77 persone nel raggio di 4 km, di cui 66 deceduti per antrace respiratorio. Il largo impiego di penicillina nella popolazione esposta ha molto probabilmente ridotto il numero di casi [8].

Il timore dell'impiego dell'antrace da parte irachena durante le due guerre del golfo (1990 e 2002-2003) ha suggerito la vaccinazione anti-carbonchiosa delle truppe statunitensi.

Al vaccino adiuvato utilizzato nella guerra del 1990 è stato ipotizzato potesse essere attribuita la cosiddetta *Sindrome del Golfo*, patologia multiorgano che si è manifestata in un numero imprecisato di reduci.

Tale possibile correlazione è stata una delle cause della diffidenza nei confronti dei vaccini adiuvati con squalene distribuiti per la recente epidemia influenzale da H1N1.

Un documentato utilizzo bioterroristico di spore carbonchiose si è avuto soltanto in due occasioni:

- nel 1993 nella metropolitana di Tokio ad opera della setta *Aum Shrinrikyo*, senza conseguenze, verosimilmente per la non patogenicità del ceppo di laboratorio impiegato;
- nel settembre-ottobre 2001 negli Stati Uniti, in seguito alla spedizione (probabilmente da parte di mittenti statunitensi non in collegamento con centrali terroristiche) di buste contenenti spore in polvere (11 casi di antrace cutaneo e 11 casi di polmonite, 6 dei quali letali) [11].

Malgrado il dispiego enorme di risorse, particolarmente negli Stati Uniti, la profilassi pre-esposizione è ancor oggi basata sull'impiego di vaccini di non recente concezione a base di supernatanti privi di cellule batteriche ma contenenti l'antigene protettivo, come quello statunitense preparato a partire dal ceppo *Stern*, attenuato e non capsulato (*anthrax vaccine absorbed*).

La profilassi post-esposizione (considerata la possibile preparazione di ceppi di antrace penicillino-resistenti) si avvale invece della ciprofloxacina (500 mg due volte al giorno) o della doxiciclina (100 mg due volte al giorno) per 6 settimane.

■ CASO CLINICO

Nel giugno 2009 si ricoverava presso l'U.O.C. di Malattie Infettive del Policlinico di Palermo T.P., un soggetto di 41 anni, da Giuliana (PA), dipendente pubblico, saltuariamente impegnato in pastorizia, febbrile (temperatura massima 38,5°C), con evidenza, all'avambraccio sinistro, di escara nerastra di 5 cm tenacemente aderente, pressoché indolente, circondata da un cerchione edemo-eritematoso, con adenopatia consensuale al cavo ascellare (Figura 1). La lesione era comparsa tre giorni prima, sotto forma di una grossa papula scura.

Il paziente riferiva di aver collaborato qualche giorno prima all'interramento di un bovino deceduto improvvisamente nel viciniore comune di Sambuca di Sicilia (AG). Il veterinario aveva certificato il decesso attribuendolo a "insufficienza respiratoria e meteorismo addominale", limitandosi a prelevare ed inviare una parte del tronco cerebrale all'Istituto Zooprofilattico della Sicilia, secondo la procedura per la sorveglianza epidemiologica della BSE (encefalopatia spongiforme bovina).



Figura 1 - Carbonchio cutaneo all'inizio della terapia.

I parametri emato-chimici routinari erano nella norma se si eccettuava una discreta leucocitosi con neutrofilia (GB 12.600/mm³ con 81% neutrofili). L'esame microscopico dello scarificato cutaneo colorato con Gram evidenziava un gran numero di bacilli Gram positivi ad estremità tronche ascrivibili a *Bacillus anthracis*. Emocoltura negativa e radiografia del torace nei limiti.

Dopo la diagnosi batterioscopica, veniva iniziata terapia per via endovenosa con ciprofloxacina (500 mg/die), rifampicina (600 mg/die) e, per i primi 5 giorni, anche con tigeciclina (50 mg x 2/die).

Tale scelta terapeutica di associazione scaturiva sia dalla mancata conoscenza del profilo di sensibilità, non solo dello stipite in causa ma anche dei ceppi locali di carbonchio, che dalla possibilità di una sovrainfezione con stafilococchi meticillino-resistenti e/o anaerobi.



Figura 2 - Esiti di carbonchio cutaneo a sei mesi dal termine della terapia.

Ottenuto lo sfebbramento e un iniziale miglioramento della sintomatologia locale, nonché l'esclusione di una condizione di carbonchio ematico o polmonare, dopo 8 giorni il paziente veniva dimesso con prescrizione di terapia orale con ciprofloxacina (500 mg/die) per un totale di 60 gg di terapia, secondo le più prudenti linee guida della letteratura internazionale [12]. Ai controlli post-ricovero si osservava progressiva riduzione del diametro dell'escara e infine formazione di tessuto cicatriziale infossato rispetto alla cute circostante (Fig. 2).

Il focolaio animale del distretto di Sciacca

Allertate dalla notifica del nostro caso, i veterinari di Sanità Pubblica hanno individuato diversi focolai di carbonchio in greggi bovini nei comuni di Sambuca di Sicilia, Caltabellotta e Sciacca (parte occidentale della provincia di Agrigento) con il decesso di 13 animali.

Campioni ematici prelevati dai campioni auricolari dei bovini deceduti sono stati sottoposti ad esame colturale per la ricerca di *Bacillus anthracis*. I ceppi isolati sono stati inviati al centro di referenza nazionale per l'antrace presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata per la genotipizzazione secondo il test MLVA (*Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis*). Tutti gli stipiti isolati sono risultati riconducibili al cluster A1a genotipo 19, storicamente endemico in Sicilia. Nell'area non risultavano focolai di carbonchio da circa 30 anni.

Sono state quindi applicate rigide misure di profilassi per i greggi infetti (divieto di transumanza, distruzione e interrimento delle carcasse) e per tutti gli allevamenti bovini dei comuni interessati. Si è inoltre proceduto alla vaccinazione di oltre 5000 capi tra ovini, bovini, equini e caprini con due dosi a distanza di 14 giorni utilizzando un ceppo attenuato preparato da stipiti locali (Carbosap) [13].

■ CONCLUSIONI

Patologia già da tempo limitata ad alcune regioni dell'Italia Meridionale (soprattutto Puglia, Calabria, Basilicata e Sicilia), a partire dagli anni '90 i focolai di carbonchio animale sono divenuti rari anche in Sicilia (2002, S. Mauro Castelverde, ME; 2005, alcuni centri etnei, CT; 2008 Floresta, ME).

Non è semplice spiegare il ritorno del carbonchio nell'area di Sciacca dopo oltre 30 anni.

È possibile che i recenti focolai siano da porre in relazione con la ben nota lunghissima sopravvivenza delle spore in terreni con particolari caratteristiche (calcarei ed alcalini) e con la loro superficializzazione in seguito ad operazioni di dissodamento o semplicemente per abbondanti piogge.

L'attribuzione di tutti gli stipiti studiati a un genotipo endemico in Sicilia deporrebbe in tal senso, ma desta tuttavia qualche perplessità la quasi contemporanea insorgenza dell'infezione in allevamenti distanti fra loro qualche decina di chilometri.

Anche se non risulta che mangime animale venga in Italia importato da paesi con carbonchio endemico, non è comunque da escludere che l'infezione sia attribuibile a una partita di foraggio contaminato da spore e utilizzato in quel periodo dagli allevatori del comprensorio.

Risulta quindi particolarmente importante che la sanità pubblica veterinaria mantenga alta la guardia della sorveglianza epidemiologica anche in regioni ove il carbonchio sembri relegato a mero retaggio storico, così come in campo umano è opportuno che tale patologia venga tenuta presente nella diagnosi differenziale delle lesioni ulcero-necrotiche cutanee, in considerazione della netta riduzione della mortalità nei pazienti tempestivamente ed adeguatamente trattati (9).

Malgrado le risorse profuse nell'individuazione e nella distruzione dei laboratori utilizzabili per terrorismo batteriologico, non è comunque da trascurare la possibilità del ritorno a un uso terroristico delle spore carbonchiose, considerata la facilità di trasporto e impiego e la possibilità, con la nebulizzazione di una modesta quantità di polvere di spore, di contagiare un gran numero di persone, con una letalità superiore al 50% pur in presenza di un tempestivo trattamento.

Ringraziamenti

Si ringraziano il Dott. Santo Caracappa e il Dott. Domenico Vicari dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia che hanno gentilmente fornito i dati ancora inediti sui casi di carbonchio animale del distretto di Sciacca.

Key words: anthrax, zoonoses, bioterrorism

RIASSUNTO

Il carbonchio è una zoonosi degli erbivori causata da *Bacillus anthracis*. Casualmente l'infezione può trasmettersi all'uomo, per esposizione ad animali infetti, ai loro prodotti o alle spore nel suolo. In vaste aree dei paesi in via di sviluppo l'infezione è ancora endemica. In Italia i focolai di carbonchio animale sono ormai molto rari e i casi umani eccezionali. *Bacillus anthracis* è anche un potenziale strumento bioterroristico. Nell'infezione naturale umana, la forma cutanea è largamente prevalente, mentre molto rare sono quella polmonare e quella

cutanea. Abbiamo recentemente diagnosticato il primo caso di carbonchio umano verificatosi in Sicilia Occidentale negli ultimi venti anni. La lesione cutanea è guarita senza cicatrice deturpante dopo terapia antibiotica con tige ciclina, rifampicina e ciprofloxacina. In seguito alla nostra segnalazione, è stato individuato un focolaio di carbonchio bovino nel distretto di Sciacca, che ha causato il decesso di 13 animali. Una più vasta epidemia è stata scongiurata con la vaccinazione di oltre 5.000 erbivori.

SUMMARY

Anthrax is a disease caused by Bacillus anthracis which affects herbivorous animals. Humans acquire the disease incidentally by exposure to infected animals, animal products or spores on soil. The infection is still endemic in many regions in developing countries. In Italy animal clusters are very rare and human cases are exceptional. Bacillus anthracis is also a potential source for acts of bioterrorism. In the natural human infection, cutaneous anthrax is the most widespread, while the other

two, pulmonary and gastrointestinal anthrax, are very rare forms. We describe the first case of human anthrax occurring in western Sicily in the last twenty years. The cutaneous lesion healed without significant scarring after antibiotic treatment with tige cycline, rifampin and ciprofloxacin. Following our diagnosis, a cluster of bovine anthrax was detected in the district of Sciacca, causing the death of 13 animals. A larger outbreak was avoided by the vaccination of over 5000 herbivores.

■ BIBLIOGRAFIA

- [1] Hugh-Jones M., Blackburn J. The ecology of *Bacillus anthracis*. *Mol. Aspects Med.* 30, 6, 356-367, 2009.
- [2] Wilson J.B., Russel Kay E. Isolation of *Bacillus anthracis* from soil stored 60 years. *J. Bacteriol.* 87, 237-238, 1964.
- [3] Stein C.D. Anthrax in animals and its relationship to the disease in man. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 48, 207-210, 1947.
- [4] Kohout E., Sehat A. Ashraf M. Anthrax: a continuous problem in southwest Iran. *Am. J. Med. Sci.* 3, 565-575, 1964
- [5] Winter H., Pfisterer R.M. Inhalationsanthrax bei einem Textilarbeiter: Ein-nicht-letaler Verlauf. *Schweiz Med Wochenschr* 121, 832-835, 1991.
- [6] Turell M.J., Knudson G.B. Mechanical transmission of *Bacillus anthracis* by stable flies (*Stomoxys calcitrans*) and mosquitoes (*Aedes aegypti* and *Aedes taeniorhynchus*). *Infect. Immun.* 55, 8, 1859-1861, 1987.
- [7] Nunez J.V. *Pustula maligna*: estudio de 23 casos en la ciudad de Morelia. *Dermatologia Revista Mexicana* 4, 4-19, 1960.
- [8] Abramova F.A., Grinberg L.M., Yampolskaya O.V., Walker D.H. Pathology of inhalational anthrax

- in 42 cases from the Sverdlovsk outbreak of 1979. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90, 6, 2291-2294, 1993.
- [9] Godyn J.J., Reyes L., Siderits R., Hazra A. Cutaneous anthrax: conservative or surgical treatment? *Adv. Skin Wound Care* 18, 3, 146-150, 2005.
- [10] Dixon T.C., Meselson M., Guillemin J., Hanna P.C. Anthrax. *N. Engl. J. Med.* 341, 11, 815-826, 1999.
- [11] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: investigation of bioterrorism-related inhalational anthrax - Connecticut, 2001. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 50(47), 1049-1051, 2001.
- [12] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: investigation of bioterrorism-related anthrax and interim guidelines for clinical evaluation of persons with possible anthrax. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 50(42), 909-19, 2001.
- [13] Percipalle M., Vicari D., Sciortino N., Vullo A., Piraino C., Chetta M., Fasanella A., Ferrantelli V. Ricontri epidemiologici su casi di carbonchio ematico in Sicilia (2009). In Program and Abstracts V *Workshop Nazionale di Epidemiologia Veterinaria. L'epidemiologia veterinaria di fronte ai cambiamenti naturali e sociali che influenzano la salute*. Torino 2009, Abstract 48, p.80, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta.