

Agenti Biologici e Livelli di Biocontenimento - *UPDATE*

Ten.Col. Marco Lastilla

CORSO di FORMAZIONE "DISASTRI E CALAMITA NATURALI" 26 maggio 2011



"qualsiasi microrganismo anche geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano che potrebbe provocare infezioni, intossicazioni..."



... l'agente biologico diviene critico...

alta trasmissibilità indipendente da comportamenti a rischio

scarse misure di prevenzione

incapacità di identificare il pericolo

Anno	Patogeno	Malattia
1982	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Malattia di Lyme
1982	<i>HIV</i>	AIDS
1983	<i>Helicobacter pylori</i>	Ulcera peptica
1983	<i>Virus E</i>	Epatite E
1990	<i>Virus Guanarito</i>	HF Venezuela
1992	<i>Vibrione O139</i>	Epidemia di Colera
1992	<i>Bartonella hensalae</i>	M. da graffio di gatto
1994	<i>Virus Sabia</i>	HF Brasiliana
1995	<i>Virus G</i>	Epatite G
1995	<i>Herpes Virus - 8</i>	Associato S. Kaposi
1982 - 1996	<i>Prioni</i>	Variante umana di Creutzfeld -Jacobs
1997	<i>Virus A - H5N1</i>	Influenza Aviaria
1999	<i>Nipah Virus</i>	Encefalite febbrile
2003	<i>Coronavirus</i>	SARS
2003	<i>Virus A - H5N7; H7N7</i>	Influenza Aviaria
2009	<i>Virus A - H1N1</i>	Influenza Pandemica



Imported case of Lassa fever in Germany

25 July 2006

On 21 July 2006, German health authorities have reported to WHO an imported case of Lassa fever, confirmed by laboratory tests at the Bernhard-Nocht-Institute of Tropical Medicine, Hamburg, Germany.

The patient, resident in Sierra Leone, became ill with fever on 5 July 2006 and flew to Germany on 10 July 2006, where he arrived the following day.

He is currently being treated in isolation in Frankfurt and German health authorities have taken the appropriate measures to prevent further transmission of the virus.

Although the risk of transmission of Lassa virus to co-passengers is extremely low, an international contact tracing exercise, coordinated by the Robert Koch Institut, Berlin, Germany, is ongoing. The relevant flights are:


- 10 July 2006; SN Brussels Airlines; flight SN 207; from Freetown-Sierra Leone, via Abidjan, Cote d'Ivoire, to Brussels, Belgium;
- 11 July 2006; SN Brussels Airlines; flight SN 2607; from Brussels, Belgium to Frankfurt, Germany.

Additional information to facilitate contact tracing is available at:

- [Lassa fever detected in flight passenger - alert to fellow passengers](#)
Robert Koch Institut

- [Lassa fever case in Germany: alert issued concerning airline passengers](#)
European Centre for Disease Prevention and Control

- [Find out more about Lassa fever from the WHO fact sheet](#)

- 
- Bacterial weapons
 - Viral weapons
 - Rickettsial weapons
 - Fungal weapons
 - Toxin weapons
(vegetable, bacterial and fungal)
 - Bio-regulators
 - Protein Infective One


S. Bokan et al. "An Evaluation of Bioregulators as Terrorism and Warfare Agents" Applied Science and Analysis 2003

<i>Bioregulator</i>	<i>Source</i>	<i>Mechanims of Action</i>	<i>Target System</i>	<i>Toxicity LD50 (µg/Kg) in mice</i>
Neuropeptide Y	Mammalian Brain	Ca ²⁺ Channels (?)	Nerve Cells	NC
Endothelin (Sarafotoxin)	Human Endothelial Cells	Ca ²⁺ Channels Activator Indirect	Smooth Vascular Muscle	8



Bioterrorism vs Biocrime vs Biologic Warfare

● Motivation

- BW: State sponsored
 - BC: Vengeance, extortion, murder
 - BT: Political statement, religious ideology, incapacitation, mass murder
- *You won't know initially, if ever, if it is BW, BC, BT or just a 'good', old-fashioned outbreak*
- 

Casualties by Method: Biocrimes and Bioterrorism

METHOD	INJURED	DEATHS	TOTAL
Food	801	5	806
Direct contact	6	3	9
Water	2	0	2
Aerosol	0	0	0
Uncertain	74	2	76

Modificata da Carus WS. 2000. Bioterrorism and Biocrimes, NDU



Giugno 1999 CDC di Atlanta

5 criteri valutati per ciascun agente biologico:

- **Impatto sulla salute pubblica** per la capacità di produrre casi di malattia e morte
- Possibilità di **colpire grandi masse di popolazione** in quanto microrganismi altamente stabili, facilmente ottenibili in grandi quantità, facilmente disseminabili
- Capacità di **trasmissione diretta da persona a persona**
- Capacità di **suscitare allarme e reazioni di panico** nella popolazione in quanto percepiti come altamente pericolosi
- Necessità di **approntare speciali misure di sanità pubblica** per il loro controllo

Parametri (1)



Capacità di creare infermità

- (++) se nella maggior parte dei casi si rende necessario il ricovero in ospedale
- (+) se, in genere, i pazienti posso essere seguiti senza ricovero

Mortalità

- (+++) se la mortalità attesa, in assenza di trattamento è \geq del 50%
- (++) se la mortalità attesa in assenza di trattamento è compresa tra il 21% e 49%
- (+) se la mortalità attesa in assenza di trattamento è \leq del 20%

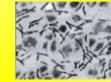
Parametri (2)

Possibilità di contaminare una grande massa di popolazione

Questo parametro è stato valutato considerando i seguenti criteri:

- Possibilità di ottenere facilmente grandi quantità dell'agente (che dipende dalla sua disponibilità e dal livello di biocontenimento richiesto per la sua produzione)
- Possibilità di una veloce disseminazione su larga scala (che dipende dalla via di trasmissione dell'infezione e dalla stabilità nell'ambiente del singolo agente biologico)

Parametri (3)



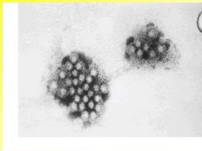
Disponibilità

- (++) se facilmente ottenibili dal terreno, animali insetti o piante (B. Anthracis)
- (+) se ottenibili solamente da campioni biologici, da campioni di laboratorio o da culture approvvigionabili attraverso canali commerciali ben regolamentati (Shigelle)
- (0) se non sono ottenibili da sorgenti ambientali o cliniche nè attraverso vie commerciali ma solamente trafugabili da laboratori di ricerca con i più alti livelli di sicurezza (Vaiole)

Parametri (4)

Biocontenimento: più il livello richiesto per produrre un determinato agente in grandi quantità è elevato, minore è il punteggio assegnato, in quanto un BSL elevato riduce la possibilità di disporre di un agente biologico a causa delle grandi capacità tecniche e degli elevati standard che richiedono la sua produzione:

- (+++) BSL 2 o inferiore
- (++) BSL 3
- (+) BSL 4



Parametri (5)

Via di trasmissione dell'infezione

La disseminazione per via respiratoria è quella che più facilmente può portare all'interessamento di larghe fette della popolazione, pertanto:

- (++) se in grado di trasmettersi soprattutto per via aerea
- (+) se in grado di trasmettersi soprattutto per via orale (acqua, cibi).

Parametri (6)

Stabilità ambientale dei singoli agenti

- (+++) se in grado di sopravvivere nell'ambiente esterno per un anno o più
- (++) se in grado di sopravvivere nell'ambiente esterno per giorni o mesi
- (+) se in grado di sopravvivere nell'ambiente esterno solo per pochi minuti o qualche ora



Parametri (7)

Si è proceduto a **sommare i punteggi ottenuti in queste 4 sottocategorie** ed in base alla somma così ottenuta, rispetto alla possibilità di produzione e disseminazione di massa, si sono attribuiti i seguenti punteggi finali:

- (+++) se la somma dei punteggi nelle predette 4 sottocategorie è \geq a 9
- (++) se la somma dei punteggi nelle predette 4 sottocategorie è di 7 – 8
- (+) se la somma dei punteggi nelle predette 4 sottocategorie è \leq a 6

Parametri (8)



Trasmissione da persona a persona

Si sono attribuiti i seguenti punteggi:

- (+++) in caso di trasmissione diretta sia per via aerea che per contatto
- (++) in caso di trasmissione diretta per via aerea
- (+) in caso di trasmissione diretta per contatto
- (0) in assenza di rischio di trasmissione diretta da persona a persona

CORRIERE DELLA SERA

IL PIÙ GRAVE ATTO DI TERRORE DEL MONDO SCOVOLTO E PARALIZZATO. SI SOSPENDEMO I COLPITTI E I PAESI CHE LI PROTEGGONO



Attacco all'America e alla civiltà

Aerei di linea dirottati dai terroristi si schiantano contro i grattacieli di New York e sul Pentagono. Crollano le Torri gemelle, forse centinaia morti sotto le macerie. Scopernati gli islamici di Bin Laden

NUMO TUTTI AMERICANI
A questo punto...

L'APOTENSA VULNERABILE
L'attacco...

IL NEMICO INVISIBILE
L'attacco...

IL RALLEVOLI DI NA INTRINSE
«Ho visto decine di persone lanciarsi dalle finestre»

ALL'INTERNO

LA POLITICA La fuga del segretario... • L'attacco...	L'ARABO La vulnerabilità dell'immagine... • L'attacco...
LA REGIONE L'ordine di una... • L'attacco...	IL MARI L'ordine di una... • L'attacco...
L'EUROPA Wahl... • L'attacco...	IL MONDO L'ordine di una... • L'attacco...

Capacità di suscitare panico nella popolazione

- E' stata valutata passando in rassegna **233 giornali americani e 70 trasmissioni radiotelevisive** per il periodo diversi.
- In base al numero delle volte che i vari agenti biologici sono stati citati si è proceduto alla seguente classificazione:

- (+++) **se citati > di 45 volte**
- (++) **se citati tra 21 e 45 volte**
- (+) **se citati tra 5 e 20 volte**
- (0) **se citati < 5 volte**

Misure di sanità pubblica

Sono state presi in considerazione **tre criteri**:

- **necessità di creare scorte ad hoc di presidi terapeutici, per assicurare l'assistenza di grande masse di popolazioni (+)**
- **necessità di incrementare le misure di sorveglianza sanitaria e condurre specifiche campagne di educazione sanitaria della popolazione (+)**
- **necessità di incrementare rapidamente la disponibilità di laboratori specialistici (+)**

I punteggi attribuiti, pertanto, sono:

- (+++) **se richiesta l'adozione di tutti e tre le misure riportate**
- (++) **se richiesta l'adozione di due di esse**
- (+) **se richiesta l'adozione di una di essa**

Tabella 2 - Categoria A

Malattia	Capacità di creare infermità	Mortalità	Ambiente	P-P	Capacità di provocare panico nella popolazione	Necessità di approntare speciali misure di sanità pubblica
Vaiolo	+	++	+	+++	+++	+++
Antrace	++	+++	+++	0	+++	+++
Peste Polmonare	++	+++	++	++	++	+++
Botulismo	++	+++	++	0	++	+++
Tularemia	++	++	++	0	+	+++
Febbri emorragiche virali	++	+++	+	+	+++	++

Tabella 2 - Categoria B

Malattia	Capacità di creare infermità	Mortalità	Ambiente	P-P	Capacità di provocare panico nella popolazione	Necessità di approntare speciali misure di sanità pubblica
Encefaliti virali	++	+	+	0	++	++
Febbre Q	+	+	++	0	+	++
Brucellosi	+	+	++	0	+	++
Febbre ghiandolare	+	+	++	0	0	++
Psittacosi	+	+	++	0	0	+
Tossina ricinica	++	++	++	0	0	++
Tifo	+	+	++	0	0	+
Colera	+	+	++	+/-	+++	+

Categoria A

Variola major	Vaiolo
Bacillus Antracis	Antrace
Yersinia pestis	Peste
Clostridium botulinum	Botulismo
Francisella Tularensis	Tularemia
Filovirus ed Arenavirus	Febbri emorragiche virali

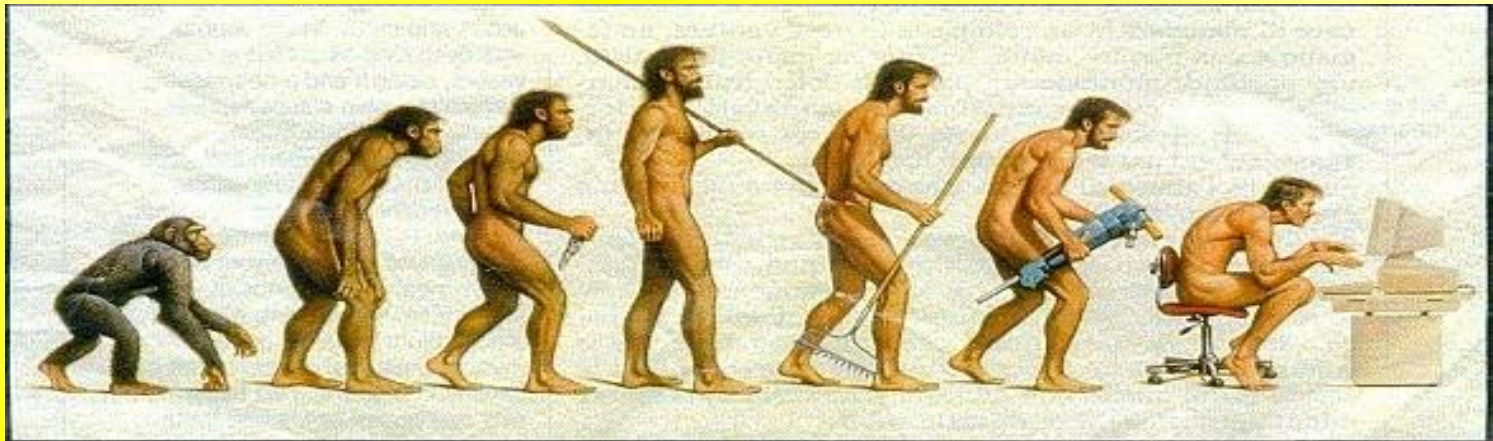
Categoria B e C

Coxiella burnetti	Febbre Q
Brucella spp.	Brucellosi
Burkholderia mallei	Febbre Ghiandolare
Burkholderia pseudomallei	Melioidosi
Alphavirus (VEE, EEE, WEE)	Encefalite
Rickettsia prowazekii	Febbre tifoide
Tossine (Es. Ricinica)	Sindromi tossiche
Chlamydia psitacci	Psittacosi
Contaminazione Cibi ed Acqua (es. Salmonella, vibrio cholerae)	Tossinfezioni

**Agenti emergenti (Nipah virus,
hantavirus)**

**Affezioni sistemiche
simili HF**

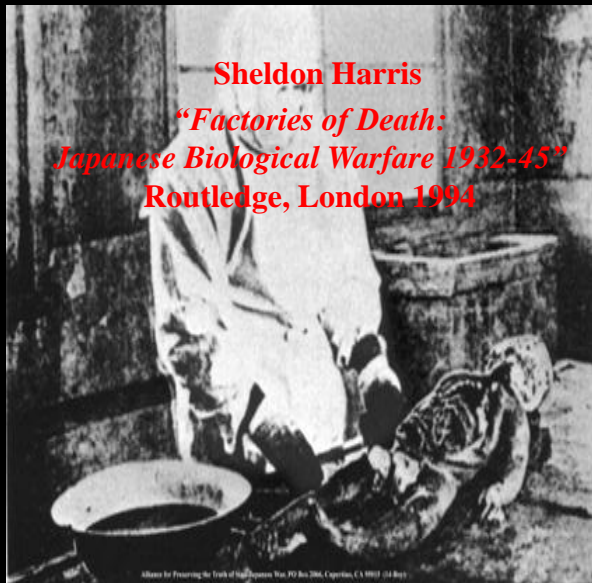
- Questa classificazione **non va considerata definitiva** ma soggetta a continui aggiornamenti mano a mano che aumentano le conoscenze o con l'introduzione di eventuali altri criteri di valutazione
 - Ad esempio, gli sforzi per eliminare dal pianeta alcune malattie infettive, paradossalmente, potrebbero rendere necessaria **l'introduzione di altri agenti nell'elenco**, in quanto la popolazione perde la propria immunità naturale o indotta dalle vaccinazioni nei loro confronti
 - Al contrario altri agenti **potrebbero essere eliminati dalla lista o quanto meno declassati** da A a B quando fossero predisposti tutte le misure necessarie per ridurre o eliminare il loro impatto sulla popolazione
- Occorre, quindi, una continua opera di sorveglianza sia per valutare correttamente gli agenti già noti, sia per individuare eventuali **nuovi rischi per la popolazione**



Somewhere, something went terribly wrong

Classificazione Operazionale

- *Letale*
- *Letale/Incapacitante*
- *Incapacitante*



$$\underline{ABef} = f(A, U, F, P, MT\dots)$$

Dose Infettante

Agente

Dose

Antrace	8.000 - 50.000 spore
Brucellosi	10 - 100 organismi
Peste	100 - 500 organismi
Tossina Botulinica	0,001 micro/Kg
Encefalite virale	10 - 100 organismi
Tularemia	10 - 50 organismi





Biocontenimento

Introduction

Chain of Infection

Reservoir of pathogen

Portal of escape

Transmission

Route of entry/infectious dose

Susceptible host

Incubation period

Practices/
Equipment

PPE

Immunization

Surveillance

Risk Assessment

- **BSL1** - agents not known to cause disease.
- **BSL2** - agents associated with human disease.
- **BSL3** - indigenous/exotic agents with potential for aerosol transmission; disease may have serious or lethal consequences.
- **BSL4** - dangerous/exotic agents which pose high risk of life-threatening disease.

agente biologico del gruppo 1: un agente che presenta poche probabilità di causare malattie in soggetti umani

agente biologico del gruppo 2: un agente che può causare malattie in soggetti umani e costituire un rischio per i lavoratori; è poco probabile che si propaga nella comunità; sono di norma disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche

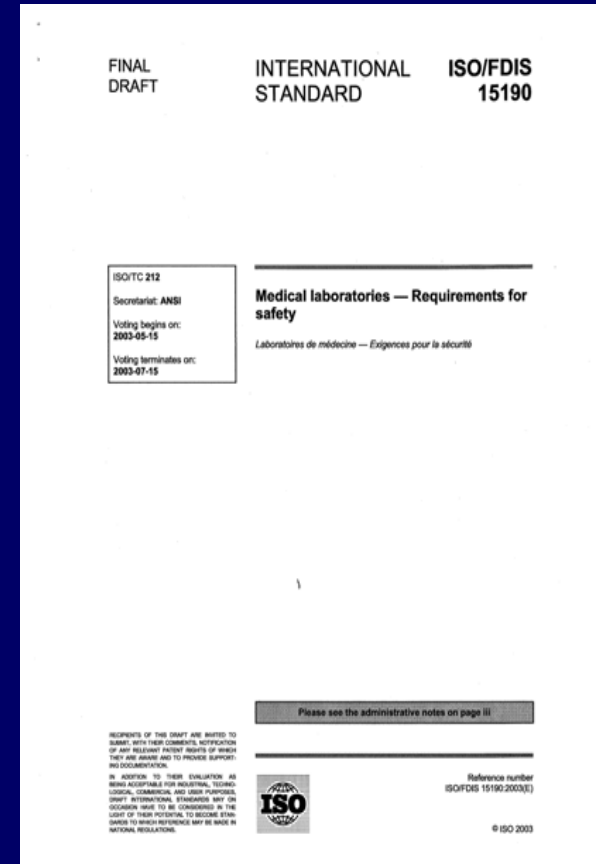
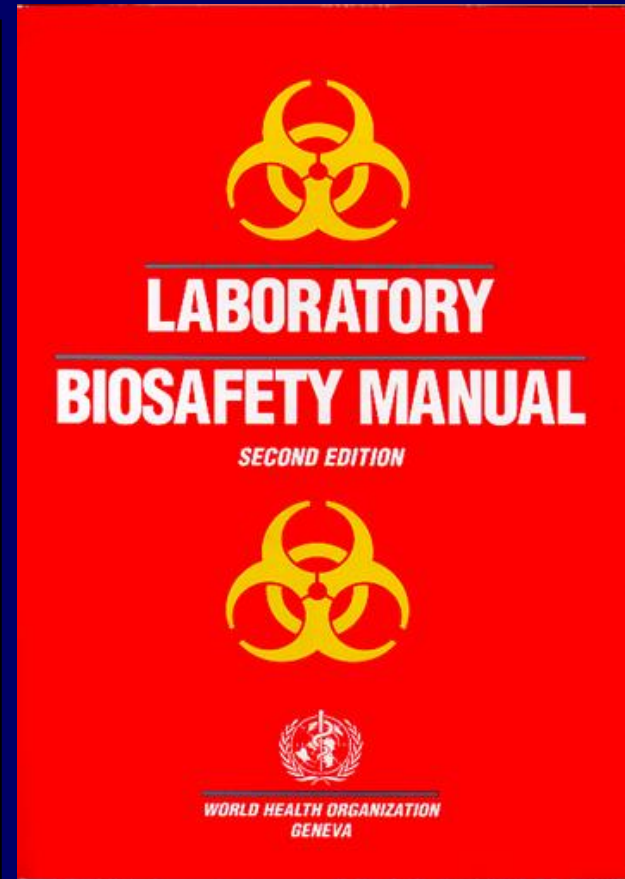
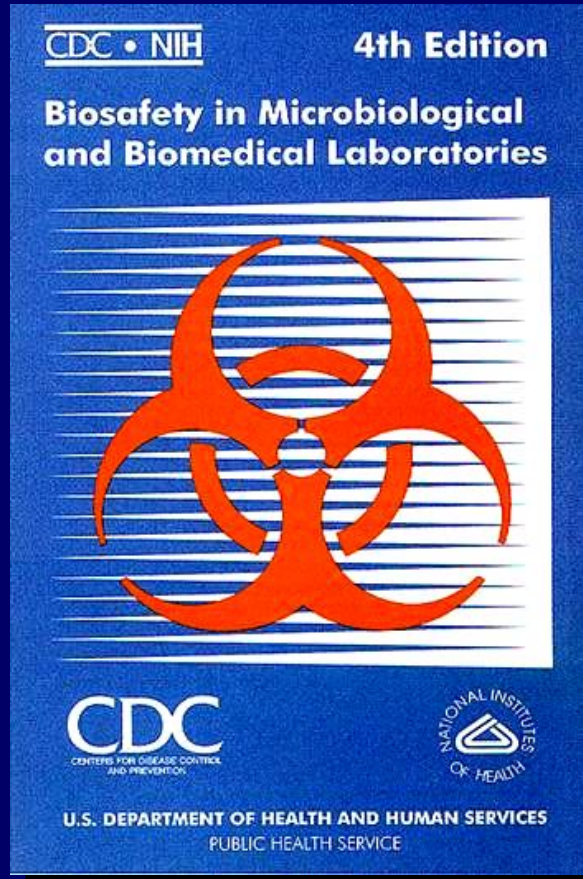
agente biologico del gruppo 3: un agente che può causare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori; l'agente biologico può propagarsi nella comunità, ma di norma sono disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche

agente biologico del gruppo 4: un agente biologico che può provocare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori e può presentare un elevato rischio di propagazione nella comunità; non sono disponibili, di norma, efficaci misure profilattiche o terapeutiche



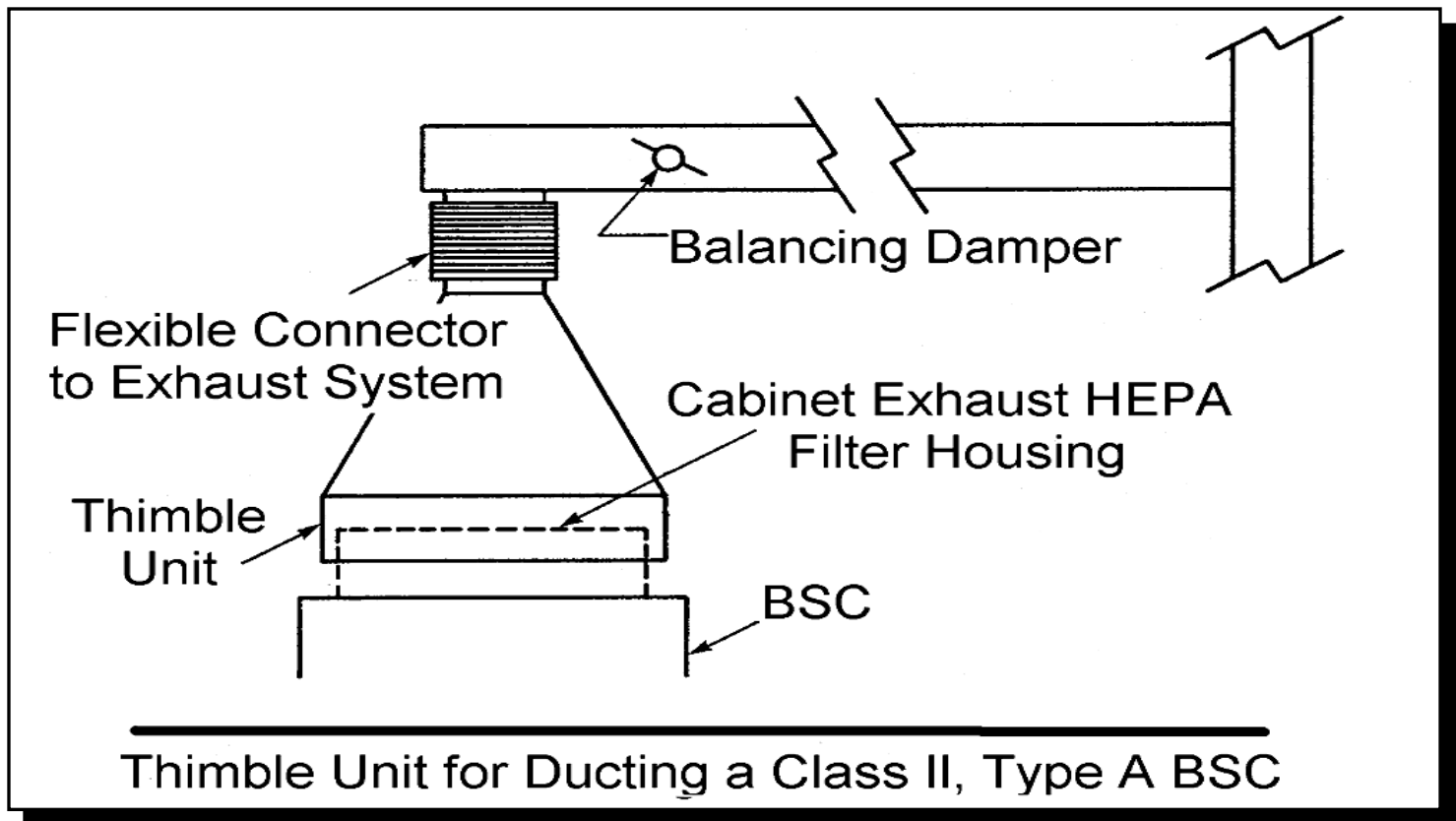
Principles *Biosafety Levels*

Safety Resources



Biosafety Level 3

Safety Equipment (Primary Barriers)



Biosafety Level 3

Laboratory Facilities (Secondary Barriers)

- BSL-1 and 2 Facilities PLUS:

- Separate building or isolated zone
- Double door entry
- Directional inward airflow
- Single-pass air; 10-12 air changes/hour
- Enclosures for aerosol generating equipment
- Room penetrations sealed
- Walls, floors and ceilings are water resistant for easy cleaning

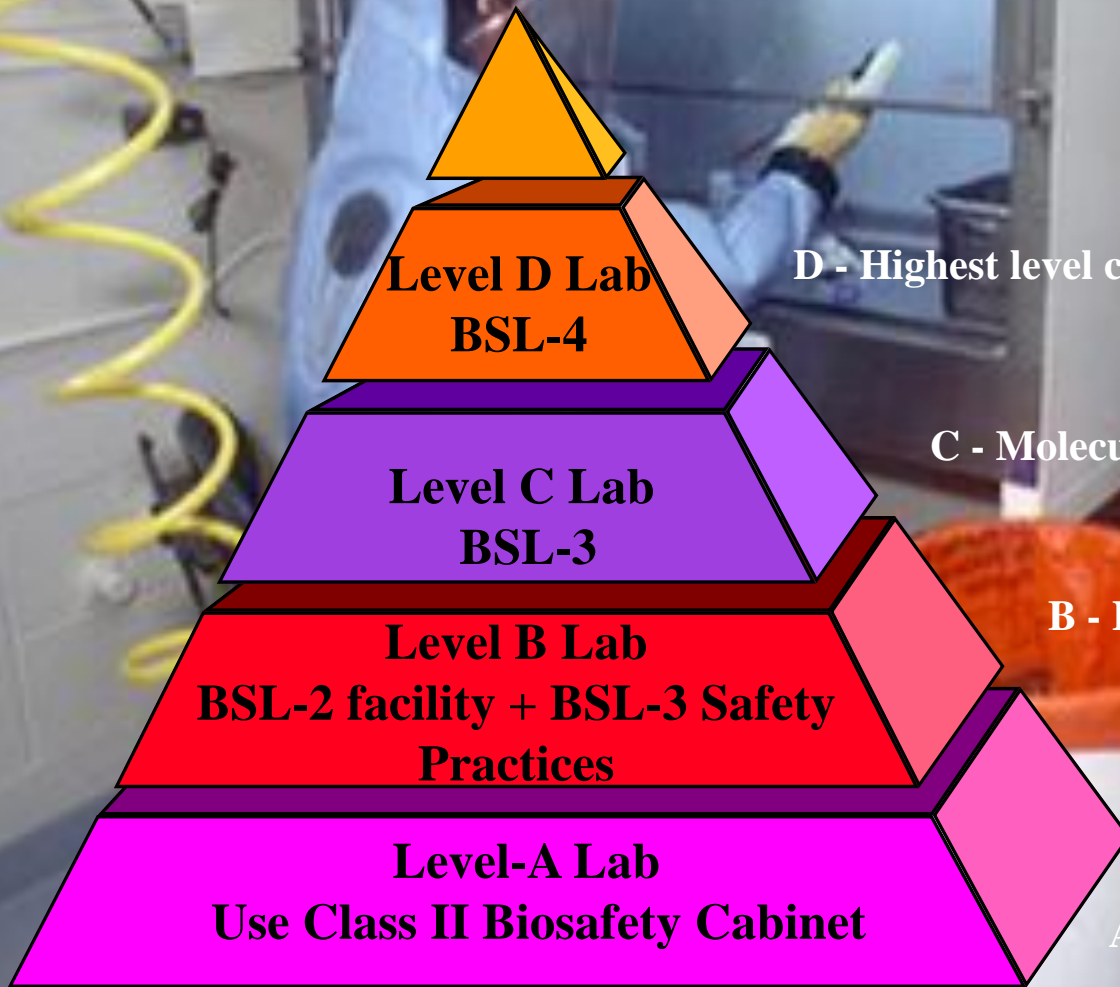
Biosafety Level 4 - Maximum Containment

- BSL -3 practices plus:
 - Clothing change before entering laboratory
 - Shower on exit
 - All materials decontaminated on exit from facility
- Safety Equipment:
 - Class III Biosafety cabinet
 - Class I or II biosafety cabinet
 - WITH full-body, air supplied,
 - positive personnel suit



b

*Laboratory Response Network
For Bioterrorism*



D - Highest level characterization

C - Molecular assays, reference capacity

B - Limited confirmation and Transport

A - Rule-out and forward organisms



Uso e tipologia dei DPI



Bioterrorism associated diseases:

Recommendations for isolation/precaution

Cutaneous Anthrax	Standard
Inhalational Anthrax	Standard
Smallpox	Standard, Airborne, Droplet, Contact (until scabs gone)
Pneumonic Plague	Droplet (until 72 hours after start antibiotic)
VHF	Standard, Airborne, Droplet, Contact

EMERGING INFECTIOUS DISEASES

Past Issue
Vol. 8, No. 4 April 2002



Baylisascaris procyonis: An Emerging Helminthic Zoonosis

Frank Sorvillo,* Lawrence R. Ash,* O.G.W. Berlin,*† JoAnne Yatabe,† Chris Degiorgio,‡ and Stephen A. Morse§

*University of California Los Angeles School of Public Health, Los Angeles, California; †Specialty Labs, Santa Monica, California, USA; ‡University of California Los Angeles School of Medicine, Los Angeles, California, USA; and §Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta Georgia, USA

Baylisascaris procyonis, a roundworm infection of raccoons, is emerging as an important helminthic zoonosis, principally affecting young children. Raccoons have increasingly become peridomestic animals living in close proximity to human residences. When *B. procyonis* eggs are ingested by a host other than a raccoon, migration of larvae through tissue, termed larval migrans, ensues. This larval infection can invade the brain and eye, causing severe disease and death. The prevalence of *B. procyonis* infection in raccoons is often high, and infected animals can shed enormous numbers of eggs in their feces. These eggs can survive in the environment for extended periods of time, and the infectious dose of *B. procyonis* is relatively low.

Therefore, the risk for human exposure and infection may be greater than is currently recognized.

i = Infective Stage
d = Diagnostic Stage

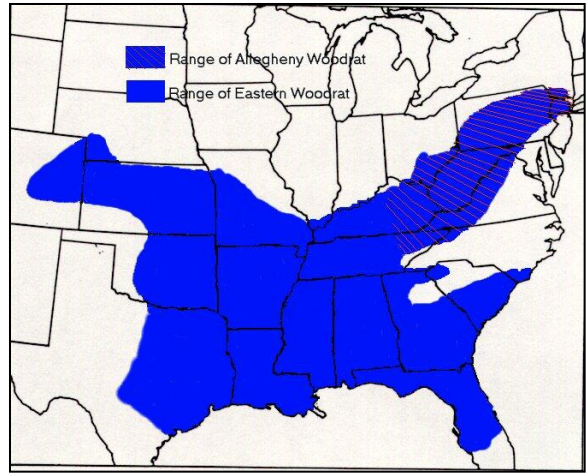


<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>



In humans, eggs hatch after ingestion, and larvae penetrate the gut wall and migrate to a wide variety of tissues and cause VLM and OLM. **d**

In paratenic hosts (small mammals and birds), larvae penetrate the gut wall and migrate into various tissues where they encyst.



Paratenic host containing encysted larvae is eaten by raccoons

Small mammals (woodchucks, rabbits, etc.) and birds

Raccoons*

Larvae develop into egg-laying adult worms in the small intestine.

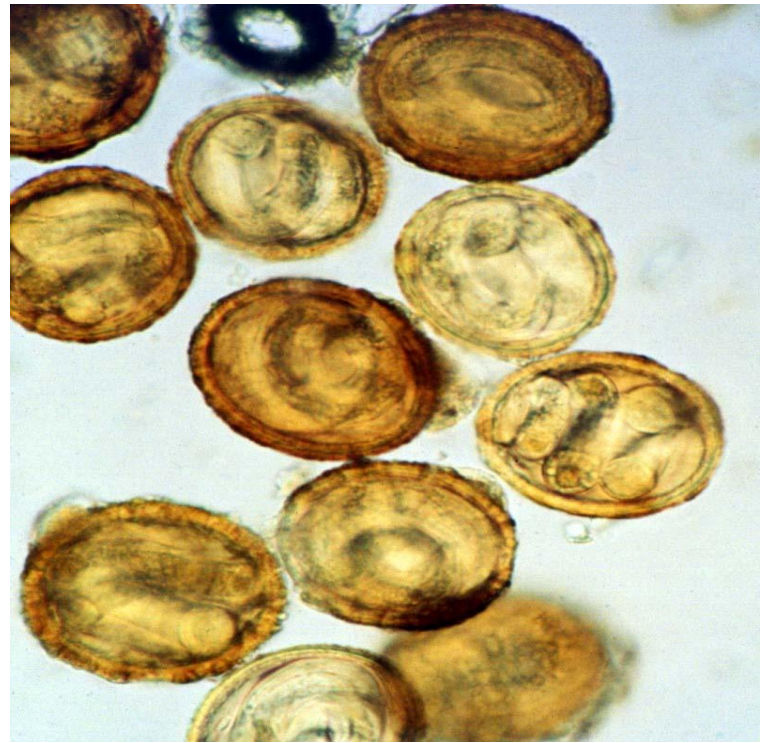
Eggs hatch and larvae are released in the intestine.

*Dogs can apparently be reservoir hosts as they harbor patent infections and shed eggs.

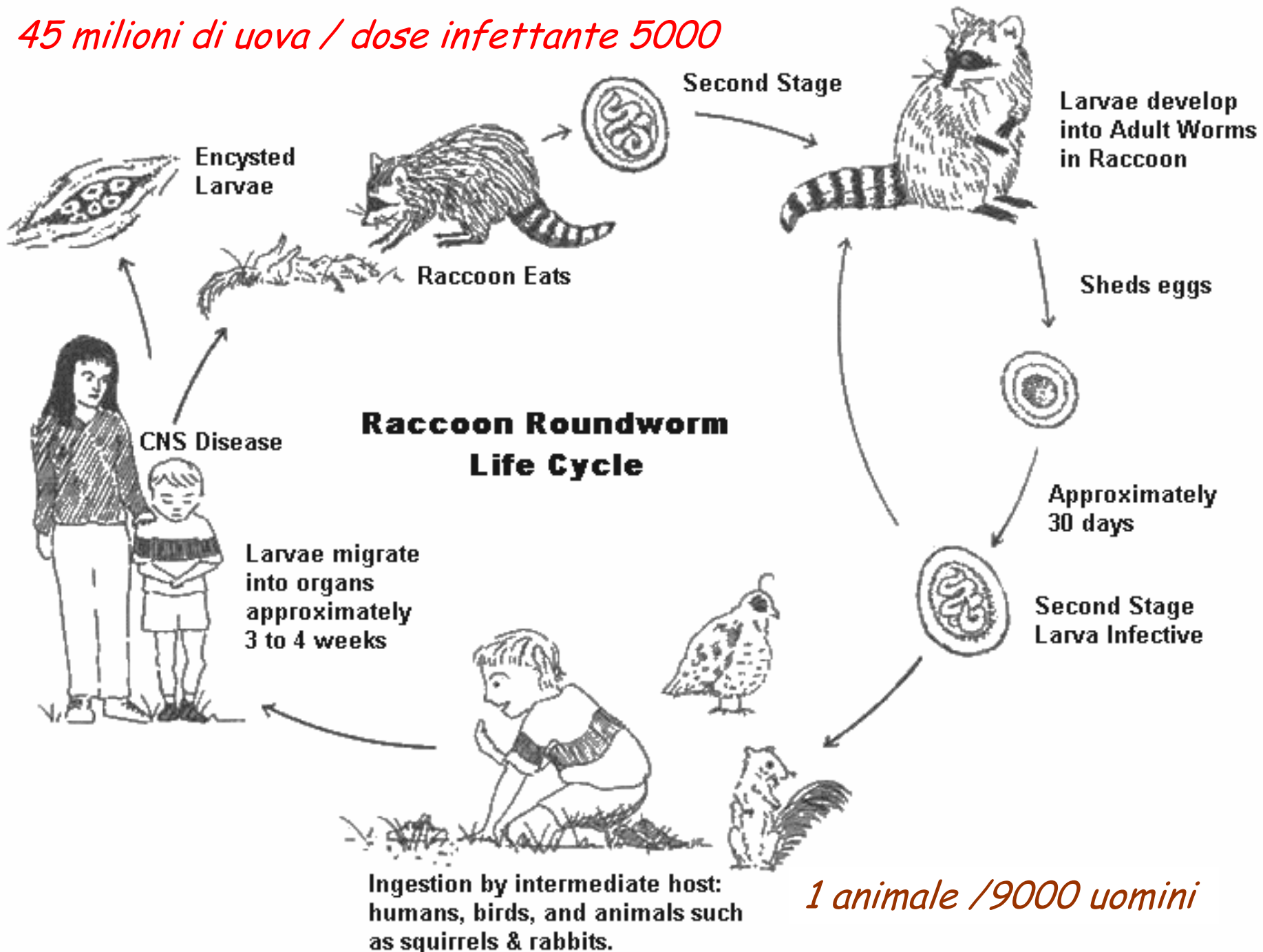


Eggs passed in feces

Eggs Ingested



45 milioni di uova / dose infettante 5000



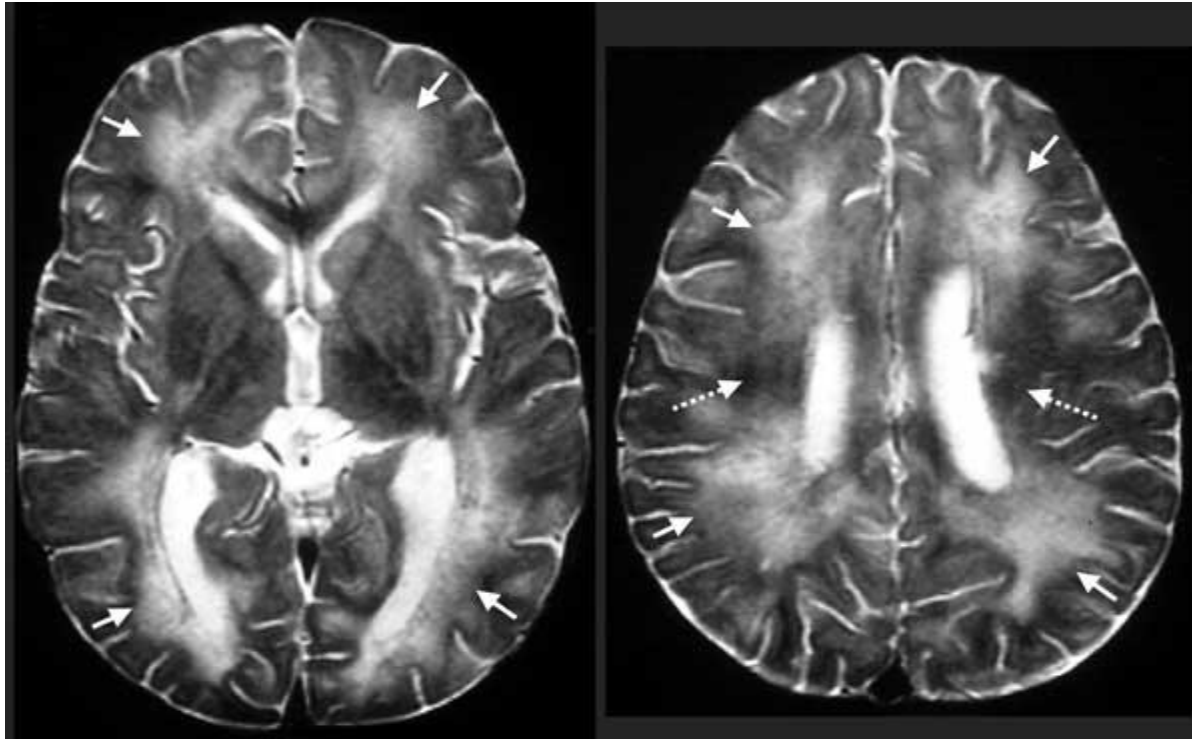
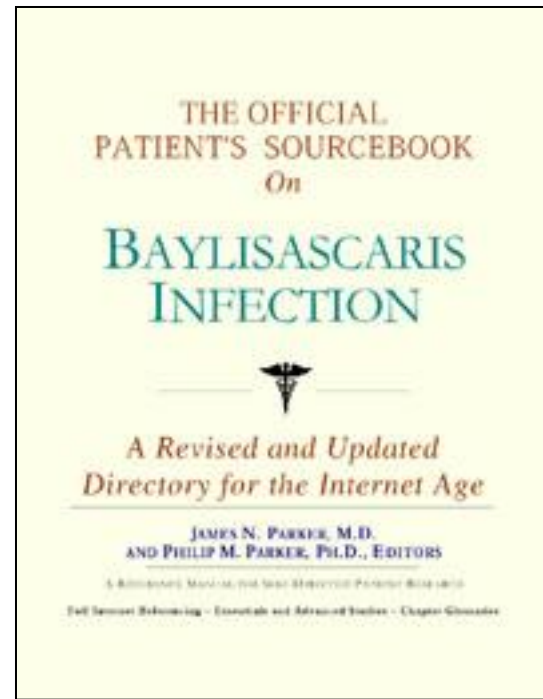
1 animale / 9000 uomini

A single adult female worm may produce an estimated 115,000 to 877,000 eggs per day, and an infected raccoon can shed as many as 45,000,000 eggs daily

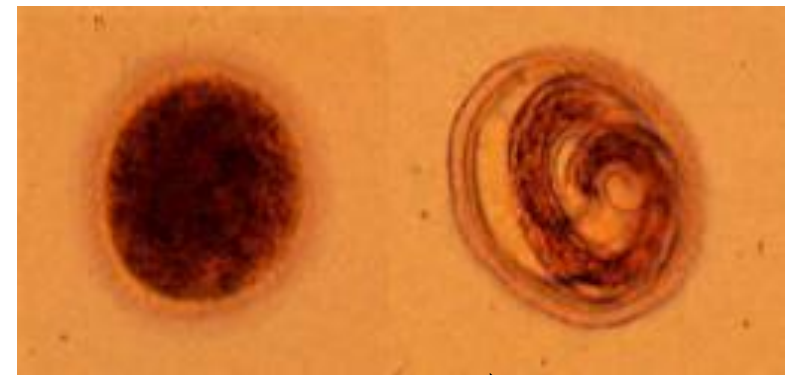
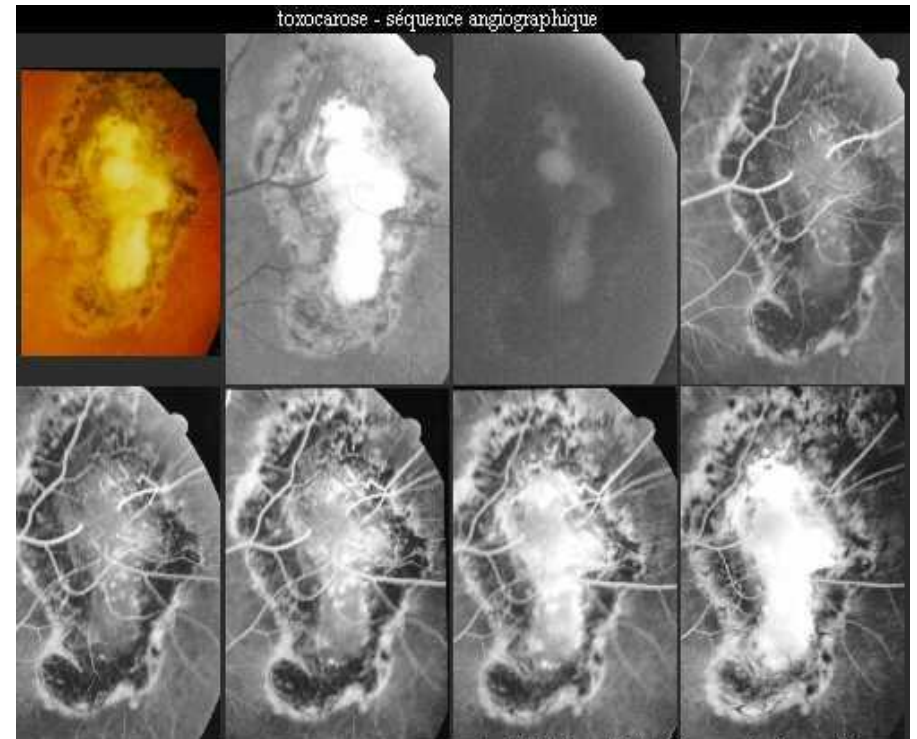
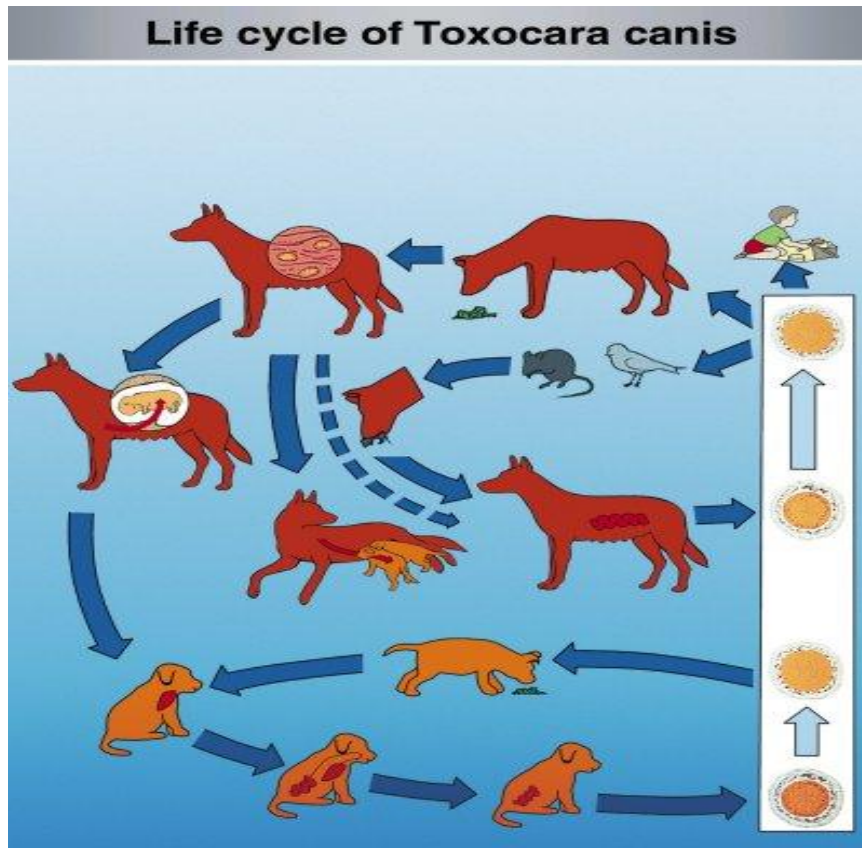
In light of the relatively low infectious dose of *B. procyonis* (estimated to be $\leq 5,000$ eggs) and the viability of the eggs in the environment for months to years, the infection potential is not insubstantia

Possible Agent of Bioterrorism

In an era of increasing concern about bioterrorism, certain characteristics of *B. procyonis* make it a feasible bioterrorist agent. The organism is ubiquitous in raccoon populations and therefore easy to acquire. Enormous numbers of eggs can be readily obtained, and these eggs can survive in an infectious form for prolonged periods of time. As with other ascarids, the eggs can remain viable in a dilute (0.5%-2%) formalin solution for an indefinite period of time, and animal studies suggest that *B. procyonis* has a relatively small infectious dose



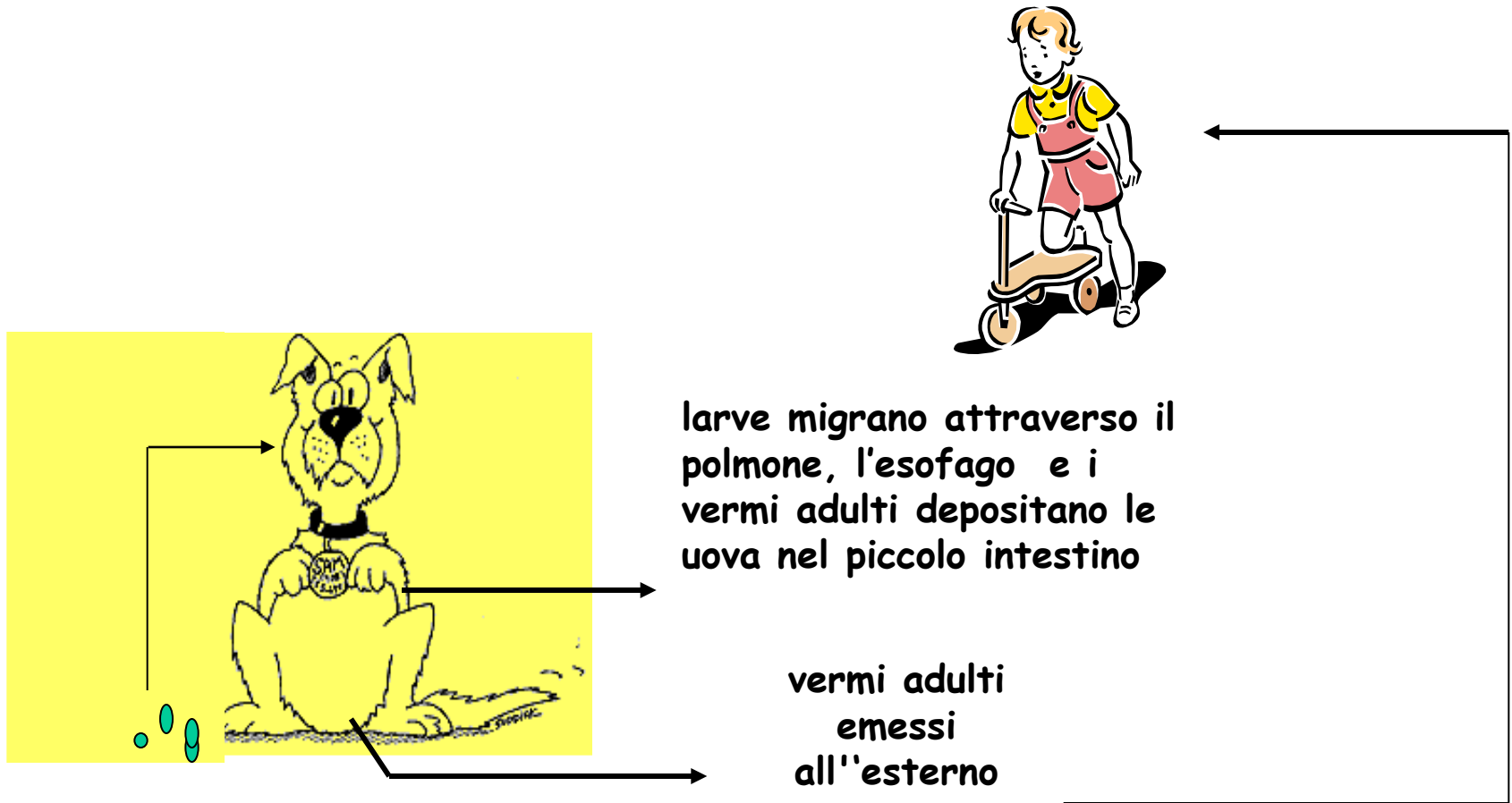
Toxocarosi




uova in vari stadi di maturazione (ovviamente le uova non si repertano nell'uomo)

Toxocara canis: il ciclo vitale avviene nel cane mentre l'uomo rappresenta un ospite accidentale.

L'uomo si infetta accidentalmente ingerendo le uova presenti nel terreno. Le larve a livello della parete intestinale e attraverso il sangue arrivano al fegato, al cuore, al polmone, all'occhio, causando una serie di lesioni locali alla base della toxocariasi.



A person wearing a full white protective suit, including a hood and gloves, is seated at a workstation in a laboratory or clinical setting. They appear to be working with equipment or a computer monitor. The background shows shelves with various items and a window.

“E' molto difficile che qualcosa possa rappresentare il terrore dell'ignoto meglio della reazione di una popolazione al manifestarsi di una epidemia, specialmente se l'epidemia colpisce in modo apparentemente casuale”

Edward Kass

II CONTAGIO

Ten.Col. Marco LASTILLA

Direzione Generale della Sanità Militare

Via di Santo Stefano Rotondo, 4 - 00184 Roma

Telefono 06/777039049

Fax 06/777039300

Cellulare 320/4338481

Mail marco.lastilla@aeronautica.difesa.it

