

Uso bellico e terroristico della tossina botulinica

In questi ultimi anni i media hanno riportato con allarmata preoccupazione il fatto che i contendenti di avvenimenti bellici in corso o gruppi terroristici operativi in alcuni Paesi potessero disporre e utilizzare armi biologiche. Lo sviluppo e l'uso di armi biologiche non è cosa degli ultimi decenni; la ricerca di mezzi per danneggiare e/o terrorizzare gli avversari è stata oggetto di interesse anche nei secoli passati.

Vari agenti sono stati presi in esame per un possibile uso come armi biologiche man mano che le conoscenze scientifiche lo lasciavano intravedere; tra questi grande interesse ha suscitato la tossina botulinica per vari motivi:

- è facile da produrre;
- è di elevata letalità (1 g di tossina cristallizzata è in grado di uccidere 1 milione di persone) o, comunque, è capace di provocare una malattia tanto grave da richiedere cure prolungate.

La produzione e l'uso della tossina botulinica come mezzo bellico risalgono a circa 60 anni fa, quando il Giappone prima e gli USA e la Germania poi svilupparono specifici programmi *ad hoc*. In tempi più recenti, anche l'Iraq e l'ex Unione Sovietica hanno avviato analoghi programmi.

A tutt'oggi però non si ha notizia di casi di intossicazioni conseguenti a un rilascio deliberato della tossina botulinica. Tuttavia, a cavallo tra il 1990 e il 1995, terroristi giapponesi legati al culto di Aum Shinrikj hanno tentato di disperdere la tossina botulinica sotto forma di aerosol in alcune zone di Tokyo e in alcune installazioni militari americane presenti in Giappone.

Nello stesso periodo, l'Iraq ha ammesso, con gli ispettori delle Nazioni Unite recatisi nel Paese dopo la guerra del Golfo, di aver prodotto tossina botulinica concentrata e di averne utilizzata 10 000 l per la produzione di armi.

La tossina botulinica è prodotta da un microorganismo sporigeno anaerobio, il *Clostridium botulinum*; si tratta di una proteina tossica in grado di causare dopo 2 ore-8 giorni dall'ingestione una grave paralisi flaccida simmetrica discendente afebrile (il botulismo) nell'uomo e negli animali. La malattia si presenta sotto varie forme a seconda delle modalità con cui la tossina viene assunta (ingestione di tossina preformata con gli alimenti - alimentare - o inalazione della tossina mediante aerosol - inalazione; assorbimento intestinale o a livello di un tessuto traumatizzato infetto a seguito della germinazione di spore e produzione *in vivo* della tossina: botulismo infantile, botulismo tipo infantile dell'adulto o botulismo da ferita).

È noto che diversi ceppi di *C. botulinum* producono tossine botuliniche, che pur agendo in maniera simile, non sono affatto identiche fra loro. Attualmente, sono state identificate 7 diverse varianti antigeniche delle neurotossine botuliniche, denominate con lettere maiuscole dalla A alla G. Le tossine

A, B, E e più raramente F provocano il botulismo nell'uomo.

La denominazione di *C. botulinum* viene utilizzata per indicare non un unico organismo capace di produrre tossine diverse ma specie con differenti caratteristiche meta-

boliche e fisiologiche. Di recente sono stati trovati clostridi capaci di elaborare neuro-

tossine botuliniche (*C. butyricum* tipo E e *C. barati* tipo F), i quali, tuttavia, in base alle caratteristiche biochimiche e genetiche, non posso-

no essere classificati come *C. botulinum*.

La neurotossina botulinica viene sintetizzata all'interno della cellula batterica durante la crescita anaerobica, dopo la germinazione delle spore. Tutte le neurotossine botuliniche vengono rilasciate all'esterno, associate ad altri componenti proteici non tossici, alla fine della fase di crescita a seguito della lisi cellulare. I composti proteici non tossici proteggono la tossina da fenomeni di denaturazione (ad esempio, resistenza all'acidità gastrica per cui passa inalterata nell'intestino). Quando il pH gastrointestinale diventa leggermente alcalino, le neurotossine si staccano dai componenti non tossici e assumono la forma di catene polipeptidiche singole, biologicamente inattive. L'attivazione, provocata dalla scissione di un ponte disolfuro operata da pro-



Sono stati identificati sette diversi tipi di tossine botuliniche

Paolo Aureli

Laboratorio di Alimenti, ISS



teasi di origine batterica o tissutale, porta alla formazione di una molecola costituita da 2 catene, una leggera (L, 50 kDa) e una pesante (H, 100 kDa), legate fra loro da un altro ponte disolfuro e da legami non covalenti.

Le tossine attraversano l'epitelio intestinale mediante meccanismi di transitosi e, diffondendosi nell'organismo attraverso i liquidi corporei, raggiungono le terminazioni nervose periferiche.

Una volta raggiunto l'organo bersaglio le neurotossine agiscono come zinco-endopeptidasi su diverse proteine sinaptiche coinvolte nei processi di neurotesocitosi del neurotrasmettitore acetilcolina: il taglio operato dalle tossine botuliniche blocca il rilascio del neurotrasmettitore e provoca la paralisi flaccida del botulismo.

La dose letale di tossina per l'uomo non è nota; questa può essere estrapolata dagli studi sugli animali: la dose letale di tossina cristallina tipo A in un soggetto di 70 kg è di circa 0,09-0,15 µg per via endovenosa o intramuscolare, di 0,70-0,90 µg per inalazione e di 70 µg per via orale. Alla luce di tali valori appare poco probabile che si possa utilizzare come arma biologica il prodotto terapeutico presente in commercio contenente la tossina tipo A, perché contiene solo lo 0,3% della dose stimata letale se inalata e lo 0,005% di quella stimata letale se ingerita.

È da sottolineare il fatto che la tossina svolge la propria azione solo quando viene a contatto con le mucose, mentre la pelle intatta è impermeabile alla tossina.

La tossina botulinica viene facilmente inattivata con il calore ($T > 85\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 5 min); per tale ragione il botulismo alimentare deriva esclusivamente dall'ingestione di alimenti contenenti tossina preformata che non sono stati sottoposti a riscaldamento prima del consumo o sono stati riscaldati a temperatura inadeguata. La tossina è anche inattivata dai correnti trattamenti utilizzati per la potabilizzazione dell'acqua. Tuttavia, esiste una possibilità teorica di contaminazione dell'acqua al terminale di distribuzione.

In caso di botulismo la terapia più appropriata si basa sulla somministrazione dell'antitossina (disponibile presso il Ministero della Salute, Dipartimento di Prevenzione, Ufficio III) associata ove necessario a terapia di supporto. Per essere veramente efficace, l'antisiero va somministrato nel più breve tempo possibile al paziente con i segni neurologici del botulismo. Per effetto degli attuali protocolli terapeutici, la morte sopravviene raramente.

In base a quanto emerso dall'osservazione dei casi di botulismo verificatisi in Italia negli ultimi dieci anni, si può affermare che la malattia è un evento raro, imputabile pre-

valentemente al consumo di conserve alimentari contaminate. Il numero dei soggetti colpiti in ciascun episodio è assai contenuto (<3 casi). La presenza della tossina nell'alimento è provocata:

- da un trattamento di sterilizzazione non corretto ($< 121\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 3 min), per cui le spore sopravvissute possono germinare quando il prodotto viene conservato a temperatura favorevole ($>$ di $3-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) per tempi lunghi che porta alla produzione della tossina;
- da un'acidificazione insufficiente ($\text{pH} > 4,5$) delle conserve pastorizzate confezionate sott'olio.

La possibilità di provocare botulismo contaminando volontariamente alimenti e acqua con la tossina esiste seppure con elevata difficoltà pratica. Ciò, tuttavia, avrebbe un impatto relativo sulla popolazione sia perché limitato solo ai soggetti che dovessero consumare la porzione di prodotto contaminato sia perché limitato solo ai prodotti pronti, da consumare senza essere riscaldati. Nel caso in cui si volessero provocare casi di botulismo mediante diffusione della tossina sotto forma di aerosol, tale evento potrebbe essere influenzato dalle condizioni atmosferiche e da fattori di degradazione (in condizioni di elevata umidità e a temperatura ambiente si stima che la sua attività si riduca dell'1-4% al min). Una soluzione concentrata può sparire dall'ambiente in circa 2 giorni.

In ogni caso, gli effetti conseguenti all'uso terroristico o bellico della tossina botulinica dovrebbero poter essere rapidamente circoscritti. Per questo, è necessario disporre di un efficiente sistema di sorveglianza che si allerti in presenza di un abnorme numero di casi per individuare nel più breve tempo possibile la sorgente e le cause della contaminazione. Tuttavia, perché la sorveglianza sia tempestiva è necessario avanzare il sospetto diagnostico nel più breve tempo e confermarlo con analisi microbiologiche rapide.