

BOTULISMO UMANO E ANIMALE: CASI REALI E CONFERMA DI LABORATORIO

Fabrizio Anniballi & Bruna Auricchio

Istituto Superiore di Sanità
Dip. Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare
Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo
Viale Regina Elena, 299 – 00161 Roma
Tel. 06 - 4990 2254 – Fax 06 – 4990 2045

fabrizio.anniballi@iss.it - bruna.auricchio@iss.it - cnr.botulismo@iss.it

OUTLINE


- ✓ Conferma di laboratorio botulismo umano
 - 5W (Who – What – When – Where – Why)
- ✓ Campionamento – botulismo umano
 - Cosa prelevare
 - Come prelevare i campioni – significatività del campione
 - Parametro da determinare Vs campione
 - Documentazione correlata
- ✓ Considerazioni conferma di laboratorio e campionamento in caso di botulismo animale
- ✓ Conclusioni

INTRODUZIONE

5W



CIRCOLARE MINISTERIALE


Ministero della Salute
DIPARTIMENTO DELLA SANITÀ PUBBLICA E DELL'INNOVAZIONE
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE
Ufficio 05 Ex DGPREV
Viale Giorgio Ribotta, 5 - 00144 Roma

Allegato 1

Oggetto: Circolare "Sorveglianza, prevenzione e misure di controllo del botulismo"

Ministero della Salute
DGPRE
0021834-P-12/10/2012
I.4.c.a.9/2012/26
112027691

Assessori Regionali alla Sanità delle Regioni a Statuto Ordinario e Speciale e delle Province Autonome di Trento e Bolzano
LORO SEDI

Istituto Superiore di Sanità
Viale Regina Elena, n. 299
ROMA

Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo
Dipartimento di Sanità Pubblica
Veterinaria e Sicurezza Alimentare
Istituto Superiore di Sanità
Viale Regina Elena, n. 299
ROMA

Istituto Nazionale per le Malattie Infettive
I.R.C.C.S. "Lazzaro Spallanzani"
Via Portuense, 292
ROMA

Unità di Crisi - Ministero Affari Esteri
Piazzale della Farnesina, 1
ROMA

Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e la Nutrizione
Ministero della Salute
SEDE

Regione Veneto - Assessorato alla Sanità
Direzione Regionale Prevenzione
Coordinamento Interregionale della Prevenzione
Dorsoduro 3493
30125 - Venezia

- ✓ Flusso informativo
- ✓ Definizione caso
- ✓ Classificazione caso
- ✓ Criteri di conferma
- ✓ Diagnosi clinica
- ✓ Terapia
- ✓ Misure di prevenzione
- ✓ Misure di controllo

Ministero della Salute
DGPRES
0021834-P-12/10/2012
I.4.c.a.9/2012/26

www.sanita.it

-

www.iss.it/cnrb



BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

"Progetto Formativo Aziendale", Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



WHY



CRITERI DI LABORATORIO

Il caso deve soddisfare **almeno 1** dei seguenti criteri:

- isolamento del *C. botulinum* nelle feci (botulismo infantile) o nella ferita (botulismo da ferita).
L'isolamento del *C. botulinum* nelle feci degli adulti non è pertinente per la diagnosi di botulismo alimentare, fatto salvo i casi in cui non sia soddisfatto il criterio clinico, per cui in tali casi esso assumerà validità diagnostica;
- identificazione della tossina botulinica in un campione clinico.
L'identificazione della tossina nel residuo alimentare costituisce criterio diagnostico in presenza di sintomatologia che soddisfi il criterio clinico.

Il solo isolamento del microrganismo in un alimento non costituisce invece criterio diagnostico.

In base alla combinazione di questi criteri il caso è classificato come:

- A. Caso probabile: qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici ed epidemiologici.**
- B. Caso confermato: qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio (conferma di laboratorio).**

WHEN



DEFINIZIONI DI CASO E CRITERI DIAGNOSTICI

CRITERIO CLINICO

Qualsiasi persona che presenti **almeno una** delle seguenti manifestazioni cliniche:

Botulismo alimentare o da ferita (dell'adulto)

Almeno una delle seguenti due manifestazioni:

- disfunzione bilaterale dei nervi cranici (diplopia, visione appannata, disfagia, compromissione bulbare);
- paralisi periferica simmetrica discendente.

Altri sintomi: stipsi.

Botulismo infantile

Qualsiasi bambino di età inferiore ad 1 anno, che presenti **almeno una** delle seguenti cinque manifestazioni: letargia, difficoltà nell'alimentazione, ptosi, disfagia, ipotonia generalizzata e costipazione.

Si fa presente che la costipazione, da sola, non è patognomonica di botulismo infantile, ma deve essere accompagnata da almeno uno degli altri sintomi neurologici sopra indicati, in particolare l'ipotonia generalizzata.

WHO - WHERE



- invio, ai fini della conferma diagnostica, secondo quanto disposto dai modelli organizzativi regionali, ai laboratori degli IIZZSS competenti per territorio o al Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo presso il Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare dell'I.S.S., di campioni di materiali biologici e degli alimenti sospetti, accompagnati dalla acclusa scheda di notifica (Allegato1) e secondo le indicazioni fornite telefonicamente dai laboratori stessi (Cfr. Diagnosi di laboratorio).

Tutti i laboratori coinvolti nell'attività diagnostica (ISS, IIZZSS) devono comunicare i risultati dell'accertamento del caso (sia positivi che negativi), appena questi siano disponibili, tanto all'Ente richiedente (struttura sanitaria) quanto al Ministero della Salute.

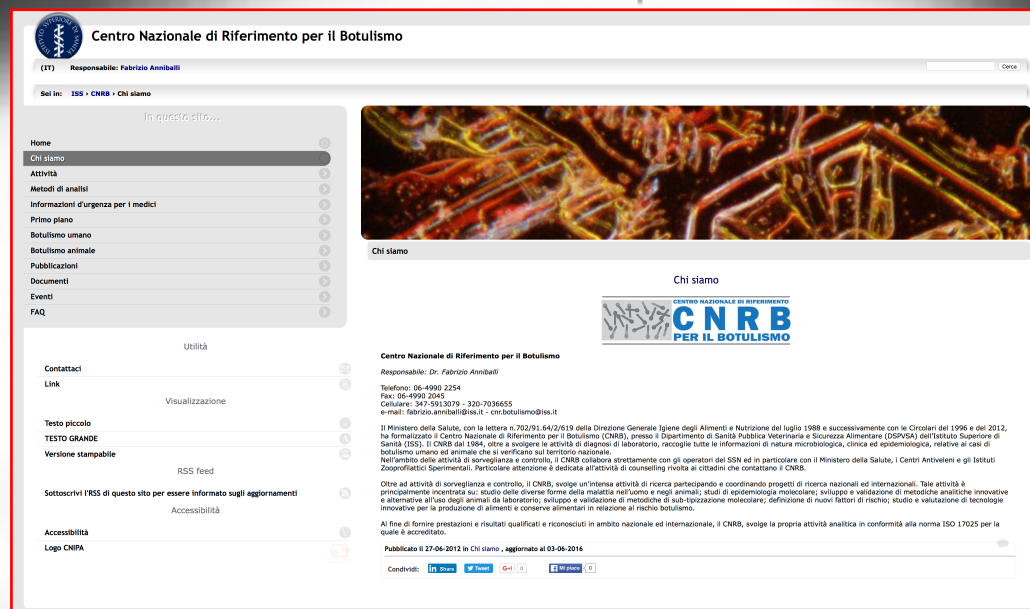
I laboratori degli IIZZSS comunicheranno i risultati dell'attività diagnostica anche al Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo, ai fini della definizione e gestione dei casi di botulismo, di concerto con il Ministero della Salute;

WHAT or HOW...





... CNRB!



The screenshot shows the website of the Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo (CNRB). The header includes the CNRB logo and the name of the center. Below the header, there is a navigation menu on the left with links to Home, Chi siamo, Attività, Metodi di analisi, Informazioni d'urgenza per i medici, Primo piano, Botulismo umano, Botulismo animale, Pubblicazioni, Documenti, Eventi, and FAQ. The main content area features a large image of a microscopic view of botulinum toxin, a section titled 'Chi siamo' with the CNRB logo, and a detailed description of the center's mission and activities. The footer includes contact information and social media links.

www.iss.it/cnrb



BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

“Progetto Formativo Aziendale”, Istituto Zooprofilattico Sperimentale

del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



SCENARIO BOTULISMO UMANO



BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

“Progetto Formativo Aziendale”, Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



SCENARIO 1

Il 29 novembre un ospedale contatta l'IZS per effettuare le indagini di laboratorio relative ad un sospetto caso di botulismo.



Il medico:

- non conosce le modalità di invio dei campioni,
- non conosce le modalità di reperimento dell'antitossina botulinica,
- non è certo della formulazione del sospetto diagnostico

SCENARIO 2

Il paziente è un ragazzo di 22 anni che si trova a Roma per studio.



È stato ricoverato il 29 novembre mattina con il seguente quadro clinico:

- Nausea - inizio 29 novembre verso le 6,30 del mattino
- Vomito profuso - primo episodio verso le ore 8,00 del mattino
- Una scarica diarroica
- Diplopia - disfagia - difficoltà dell'accomodamento

SCENARIO 3



Il paziente riferisce di aver assunto ingenti quantitativi di alcool e di aver fumato marijuana con i suoi coinquilini durante un festino organizzato a casa.

Durante il festino i ragazzi, in tutto 4, hanno consumato dei pasti cucinati da loro.

SCENARIO 4



In particolare il paziente si è preoccupato di preparare gli antipasti.

A cena sono stati serviti:

- Affettati acquistati nel supermercato vicino casa 3 ore prima della cena
- Tartine con crema di tartufo prodotto artigianalmente dal padre del paziente
- Tartine con crema di olive nere dolci acquistata nel supermercato poco prima

SCENARIO 5



- Bruschettine con pane casareccio e olio nuovo prodotto dal padre del paziente
- Tranette al pesto preparato dalla mamma del paziente e congelato
- Salsicce fresche di produzione artigianale preparate da un commensale
- Insalata mista (di IV-gamma)
- Giardiniera di produzione industriale

SCENARIO 6



- Vino a volontà
- Caffè e grappa

Durante il pasto i commensali hanno guardato in TV la partita di calcio e fumato marijuana

Durante la preparazione delle tartine il paziente ha consumato quasi interamente il contenuto di crema di tartufo e crema di olive. Durante il pasto le tartine non sono state consumate da tutti i commensali.

DOMANDA 1-2-3



DOMANDA 1: con uno scenario di questo tipo il sospetto di botulismo è verosimile o surreale?

DOMANDA 2: rispetto ad una sintomatologia dubbia, esistono fattori di rischio associabili al botulismo alimentare?

DOMANDA 3: come pensate di proseguire e che tipo di informazioni dovrete fornire al medico?

RISPOSTA 1-2



RISPOSTA 1: Il botulismo è verosimile, solo il paziente ha consumato dei prodotti a rischio come le tartine di tartufo e le tartine con crema di olive

RISPOSTA 2: Gli altri commensali hanno consumato pressoché lo stesso quantitativo di alcol e fumato lo stesso numero di spinelli, ma versano in buone condizioni di salute



BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

“Progetto Formativo Aziendale”, Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



RISPOSTA 3

RISPOSTA 3:



- ✓ Inviare scheda di segnalazione di caso di botulismo,
- ✓ Fornire indicazioni per l'acquisizione del siero antibotulinico,
- ✓ Fornire i riferimenti del CAV di Pavia e del CNRB
- ✓ Si richiede il prelievo dei campioni biologici
- ✓ Si indirizza il SIAN competente territorialmente per effettuare l'indagine epidemiologica e il prelievo dei campioni alimentari sospetti.

DOVE TROVARE INFORMAZIONI



Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo

www.iss.it/cnrb

(IT) Responsabile: **Fabrizio Anniballi**

Cerca

Sei in: **ISS** > **CNRB** > Informazioni d'urgenza per i medici

In questo sito...

Home

Chi siamo

Attività

Metodi di analisi

Informazioni d'urgenza per i medici

Primo piano

Botulismo umano

Botulismo animale

Pubblicazioni

Documenti

Eventi

FAQ

Utilità

Contattaci

Link

Visualizzazione

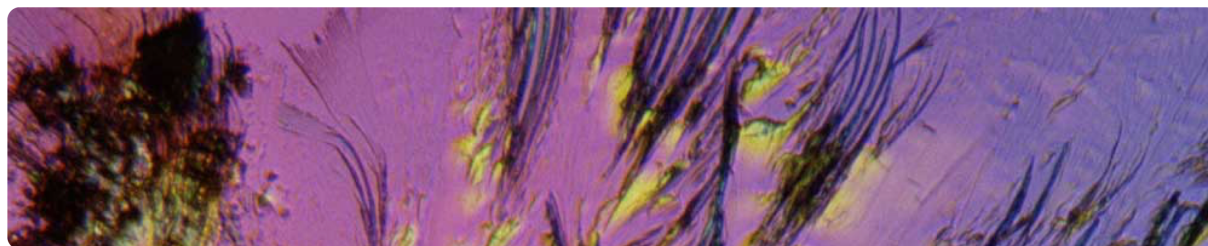
Testo piccolo

TESTO GRANDE

Versione stampabile

RSS feed

Sottoscrivi l'RSS di questo sito per essere informato sugli aggiornamenti



Informazioni d'urgenza per i medici

Informazioni d'urgenza

IL CENTRO NAZIONALE DI RIFERIMENTO PER IL BOTULISMO

Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma
Telefono: 06-4990 2254
Fax: 06-4990 2045

In orario notturno e/o festivo:

Viale del Castro Laurenziano, 10 - 00161 Roma
Telefono: 06-4990 2441
Cellulare (Fabrizio Anniballi): 347-5913079 oppure 320-7036655
e-mail: cnr.botulismo@iss.it; fabrizio.anniballi@iss.it; bruna.auricchio@iss.it; alfonsina.fiore@iss.it

PER RICHIEDERE L'ANTIDOTO

L'antidoto può essere richiesto, previa notifica del sospetto caso, all'Ufficio 5 - Malattie Infettive e Profilassi Internazionale - DG della Prevenzione Sanitaria del Ministero della Salute
Fax: 06-5994 3096
Magazzino Centrale Materiale Profilattico del Ministero della Salute (servizio attivo H24)
Tel. 06-5994 2551 oppure 06-5994 2550 oppure 06-4076177 oppure 06-5994 2918
Via dei Carri Armati, 13 - 00159 Roma

PER INFORMAZIONI/CONSULTI PER LA GESTIONE DEL PAZIENTE/TERAPIA

Per quanto concerne la gestione del paziente e gli aspetti correlati con la somministrazione dell'antidoto, rivolgersi ai Centri Antiveneni (di seguito viene fornito l'elenco e le modalità per contattarli)

INFORMAZIONI PER LA RACCOLTA DEI CAMPIONI DA SOTTOPORRE AD ANALISI DI LABORATORIO



BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

“Progetto Formativo Aziendale”, Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



Allegato 1

MINISTERO DELLA SALUTE
Dipartimento della Sanità Pubblica e dell'Innovazione
Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare e degli Organi Collegiali per la tutela della salute

☐ CASO PROBABILE
☐ CASO CONFERMATO

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ
Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo
Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare
Reperto Epidemiologico delle Malattie Infettive
Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute

☐ ALIMENTARE
☐ INFANTILE
☐ DA FERITA
☐ INTESTINALE ADULTO

SEGNALAZIONE CASO BOTULISMO

La presente scheda va compilata **IN STAMPATELLO** a cura del competente Servizio dell'Azienda Sanitaria in cui sia stato diagnosticato il caso.

Regione _____ Provincia _____

Comune _____ ASL _____

ENTE OSPEDALIERO _____ REPARTO _____

Nome Medico Compilatore _____

Recapito Medico Compilatore _____

DATI ANAGRAFICI

Cognome _____ Nome _____ Sesso ☐ M ☐ F

Residenza (se non coincide con il domicilio abituale compilare anche la riga successiva) _____

Domicilio abituale _____

Occupazione _____

Età compiuta all'inizio della malattia:

<1 anno (da 0 a 11 mesi) _____ >1 anno (da 1 a 99 anni) _____ se > indicare sempre 99

Data Inizio sintomi: ____/____/____ Comune inizio sintomi _____

Fonte di Contagio

ALIMENTO SOSPETTO _____

☐ DI PRODUZIONE INDUSTRIALE ☐ DI PRODUZIONE CASALINGA

È DI CONSUMO ABITUALE sì ☐ NO ☐

NEL CASO DI CONSERVE, SONO STATE COTTE PRIMA DEL CONSUMO? sì ☐ NO ☐

I CARATTERI ORGANOLETTEICI DELL'ALIMENTO ERANO ALTERATI? sì ☐ NO ☐

INGERITO QUANTO TEMPO PRIMA ORE _____

ALTRO ALIMENTO SOSPETTO _____ SPECIFICARE _____

• ALTRE PERSONE CHE HANNO CONSUMATO L'ALIMENTO SOSPETTO:

TOTALE _____ PERSONE CON SINTOMI _____

1/2

DATI CLINICI

SINTOMATOLOGIA CLINICA (barrare i sintomi se presenti)

<input type="checkbox"/> DIPLOPIA	gg ____ mm ____ aa ____	<input type="checkbox"/> NAUSEA	gg ____ mm ____ aa ____
<input type="checkbox"/> DISFAGIA	gg ____ mm ____ aa ____	<input type="checkbox"/> VOMITO	gg ____ mm ____ aa ____
<input type="checkbox"/> SECCHIZIA DELLE FAUCI	gg ____ mm ____ aa ____	<input type="checkbox"/> DIARREA	gg ____ mm ____ aa ____
<input type="checkbox"/> STIPSI	gg ____ mm ____ aa ____	<input type="checkbox"/> INSUFF. RESPIRATORIA	gg ____ mm ____ aa ____
<input type="checkbox"/> MIDRIASI	gg ____ mm ____ aa ____	<input type="checkbox"/> COMA	gg ____ mm ____ aa ____
<input type="checkbox"/> RITENZIONE URINARIA	gg ____ mm ____ aa ____	<input type="checkbox"/> ALTRO	gg ____ mm ____ aa ____

DIAGNOSI STRUMENTALE

☐ ELETTROMIOGRAFIA _____ Referto _____

☐ ALTRI _____ Referto _____

DECORSO

DATA DI RICOVERO ____/____/____

È STATO IMPIEGATO SIERO ANTI-BOTULINICO SÌ ☐ NO ☐

SE SÌ DOPO QUANTO TEMPO DOPO L'ESORDIO: ORE ____

QUANTE UNITÀ DI SIERO ANTI-BOTULINICO? _____

ALTRE TERAPIE SÌ ☐ NO ☐

SE SÌ QUALI _____

INDAGINI DI LABORATORIO

RICERCA DELLE TOSSINE BOTULINICHE ESEGUITA SU:

SIERO	SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	Risultato	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/>
FECI	SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	Risultato	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/>
REPERTI AUTOPTICI	SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	Risultato	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/>
ALIMENTI	SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	Risultato	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/>

RICERCA DEI CLOSTRIDI PRODUTTORI DI TOSSINE ESEGUITA SU:

FECI	SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	Risultato	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/>
REPERTI AUTOPTICI	SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	Risultato	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/>
ALIMENTI	SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	Risultato	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/>
ALTRO _____		Risultato	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/>

LABORATORIO CHE EFFETTUA L'ANALISI _____

INDIRIZZO _____ N° TELEFONICO _____

DATA DI COMPILAZIONE ____/____/____ FIRMA DEL COMPILATORE _____

La scheda va compilata in **stampatello** in ogni sua parte e va inviata a:

Ministero della Salute Dip. SPI - D.G. Prevenzione Uff. 05 Mal. Inf. e Prof. Int. Fax 06.5994.3096 e-mail: malinf@sanita.it	Ministero della Salute Dip. SPVSA D. G. Igiene e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione Fax 06.5994.3598 e-mail: dev.allerta@sanita.it	Istituto Superiore di Sanità Reperto Epidemiologia delle Malattie Infettive - CNESPS Fax 06.4423.2444 e-mail: outbreak@iss.it	Istituto Superiore di Sanità Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo - Dip. SPVSA Fax 06.4990.2045 e-mail: cnr.botulismo@iss.it
---	---	---	---

2/2

www.iss.it/cnrb

BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

“Progetto Formativo Aziendale”, Istituto Zooprofilattico Sperimentale

del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



DOMANDA 4-5-6



DOMANDA 4: Quali campioni biologici possono essere più appropriati per le indagini di laboratorio?

DOMANDA 5: Che quantitativi occorrono?

DOMANDA 6: Con che modalità i campioni devono essere raccolti, conservati, confezionati ed inviati in laboratorio?

RISPOSTA 4



RISPOSTA 4:

- Siero (sono passate meno di 24 ore dall'assunzione dell'alimento sospetto);
- Vomito (probabilmente i ragazzi non hanno ripulito le stanze);
- Campione fecale (meglio feci o lavaggio intestinale, con la diarrea e il poco tempo dall'ingestione, i tamponi rischiano di non essere idonei).

RISPOSTA 5

RISPOSTA 5:



Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo

(IT) Responsabile: **Fabrizio Anniballi**

 Cerca

Sei in: **ISS** > **CNRB** > Informazioni d'urgenza per i medici

In questo sito...

- Home
- Chi siamo
- Attività
- Metodi di analisi
- Informazioni d'urgenza per i medici**
- Primo piano
- Botulismo umano
- Botulismo animale
- Pubblicazioni
- Documenti
- Eventi
- FAQ

Siero

Il siero è il campione "gold standard" per la conferma di laboratorio, tuttavia può fornire risultati conclusivi soltanto se prelevato entro 4-5 giorni dalla comparsa dei sintomi. Trascorso tale periodo, infatti, è estremamente raro riscontrare le tossine botuliniche circolanti nel torrente sanguigno.

- Al laboratorio va inviato **siero e non sangue intero**.
- Il prelievo del campione deve essere effettuato prima della terapia con l'antitossina botulinica.
- Il quantitativo minimo necessario per l'analisi è pari a 3 ml.
- Il quantitativo ideale è pari a 10-15 ml.
- Il campione va conservato e inviato al laboratorio in condizioni di refrigerazione.
- Non è necessario prelevare in caso di sospetto botulismo infantile.

BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

“Progetto Formativo Aziendale”, Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



SIERO - PRELIEVO

- **Utilizzare** provette per siero, prive di additivi (solitamente sono provviste di tappo bianco, rosso, arancio o giallo);
- **Si possono utilizzare** anche quelle che contengono il gel barriera;
- **Non sono idonee** le provette per esami di chimica-clinica contenenti anticoagulanti come il citrato o l' EDTA (solitamente provviste di tappo verde, blu, grigio, nero, viola).



SIERO – SIGNIFICATIVITA'



- Il siero è il campione *gold standard* per la diagnosi di laboratorio del botulismo
- Nei casi di botulismo alimentare si negativizza entro 3-4 giorni dal consumo di alimenti contaminati con le tossine
- Nei casi di botulismo infantile è positivo solo nell'1% dei confermati



RISPOSTA 5

RISPOSTA 5:



Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo

(IT) Responsabile: [Fabrizio Anniballi](#)

 Cerca

Sei in: [ISS](#) > [CNRB](#) > Informazioni d'urgenza per i medici

In questo sito...

- Home
- Chi siamo
- Attività
- Metodi di analisi
- Informazioni d'urgenza per i medici**
- Primo piano
- Botulismo umano
- Botulismo animale
- Pubblicazioni
- Documenti
- Eventi
- FAQ

Contenuto gastrico - vomito

Questi campioni si analizzano molto meno frequentemente dei campioni fecali. Possono in ogni caso fornire risultati conclusivi. Per quanto concerne quantitativi, modalità di prelievo, conservazione e invio al laboratorio, valgono le stesse indicazioni fornite per le feci.



BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

“Progetto Formativo Aziendale”, Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



RISPOSTA 5

RISPOSTA 5:



Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo

(IT) Responsabile: **Fabrizio Anniballi**

Cerca

Sei in: **ISS > CNRB > Informazioni d'urgenza per i medici**

In questo sito...

- Home
- Chi siamo
- Attività
- Metodi di analisi
- Informazioni d'urgenza per i medici**
- Primo piano
- Botulismo umano
- Botulismo animale
- Pubblicazioni
- Documenti
- Eventi
- FAQ

Feci - lavaggi dell'ampolla rettale - tamponi rettali

Il campione fecale generalmente fornisce risultati conclusivi per tempi più lunghi rispetto al siero, tuttavia è significativo soltanto in presenza di una sintomatologia caratteristica.

Dal momento che la stipsi è un segno clinico del botulismo, il campione fecale potrebbe non essere disponibile. In alternativa si analizzano tamponi rettali e lavaggi dell'ampolla rettale.

- Il prelievo può essere effettuato anche immediatamente dopo la terapia con l'antitossina botulinica.
- Sono sufficienti quantitativi minimi di feci (< di 1 g).
- Il campione ideale di feci è pari a 25-50 g.
- Sono necessari 4-5 tamponi rettali. Possibilmente utilizzare i tamponi privi di terreno di trasporto.
- Sono sufficienti pochi ml di lavaggio dell'ampolla rettale.
- Il quantitativo ideale di lavaggio dell'ampolla rettale è pari a 30 ml.
- Feci, oppure in alternativa tamponi rettali e lavaggi dell'ampolla rettale, devono essere conservati e inviati al laboratorio in condizioni di refrigerazione.
- Feci, oppure in alternativa tamponi rettali e lavaggi dell'ampolla rettale, si analizzano in tutte le forme di botulismo.
- *Il lavaggio dell'ampolla rettale si effettua utilizzando acqua distillata sterile non batteriostatica o in alternativa soluzione fisiologica sterile.* Il campione dopo la raccolta può essere collocato in un vasetto per coprocultura, urinocultura oppure in provetta sterile.

BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

“Progetto Formativo Aziendale”, Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



LAVAGGIO INTESTINALE



- Utilizzare circa 30 ml di acqua sterile non batteriostatica.
- Lasciare in infusione 1-2 minuti quindi aspirare il liquido con la siringa e raccoglierlo in un vasetto per coprocoltura o urino-coltura
- In alternativa all'acqua si può utilizzare anche la soluzione fisiologica sterile



TAMPONI RETTALI

- Utilizzare preferenzialmente i tamponi a secco solitamente usati come tamponi faringei
- Evitare l'uso di quelli contenenti il terreno di trasporto
- Richiedere il prelievo di 4-5 tamponi da effettuare prima del lavaggio intestinale



CAMPIONI FECALI – SIGNIFICATIVITA'



- Generalmente sono i migliori campioni per la conferma di laboratorio
- Sul campione fecale/lavaggio intestinale è possibile determinare anche le tossine dirette
- Possono risultare negativi se non prelevati correttamente o se i sintomi neurologici sono stati preceduti da quelli gastroenterici



PARAMETRO vs CAMPIONE



SIERO: tossine botuliniche



TAMPONI RETTALI: Clostridi produttori di tossine botuliniche



FECI

LAVAGGIO INTESINALE



CONTENUTO GASTRICO



FERITE



ALIMENTI

- ✓ Tossine botuliniche
- ✓ Clostridi produttori di tossine botuliniche



RISPOSTA 6

RISPOSTA 6:



Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo

(IT) Responsabile: [Fabrizio Anniballi](#)

Cerca

Sei in: [ISS](#) > [CNRB](#) > Informazioni d'urgenza per i medici

In questo sito...

- Home
- Chi siamo
- Attività
- Metodi di analisi
- Informazioni d'urgenza per i medici**
- Primo piano
- Botulismo umano
- Botulismo animale
- Pubblicazioni
- Documenti
- Eventi
- FAQ

SPEDIZIONE DEI CAMPIONI AL LABORATORIO

E' necessario confezionare e spedire i campioni in conformità alla Circolare del Ministero della Salute N.3 dell'08-05-2003 "Raccomandazioni per la sicurezza del trasporto di materiali infettivi e campioni diagnostici"; spedizione cod.UN3373. La copia della Circolare è disponibile nella sezione "Allegati" di questa pagina.

- I campioni vanno inviati in condizioni di refrigerazione, evitando il congelamento.
- Per creare l'ambiente refrigerato è possibile utilizzare dei panetti refrigeranti (siberini).

Si consiglia in ogni caso di prendere contatti con il laboratorio prima di effettuare il campionamento e la spedizione.

BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

"Progetto Formativo Aziendale", Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



SCENARIO 7



Dall'ospedale arriva:

- ✓ Sangue intero in provetta contenente anticoagulante EDTA
- ✓ Sangue intero in provetta col tappo rosso per analisi sierologiche
- ✓ Campione fecale (50 g)
- ✓ Vomito (50 g)

SCENARIO 8



Dal SIAN arrivano:

- Confezione vuota con scarso residuo di crema al tartufo di produzione domestica
- Confezione vuota con ancor più scarso residuo di crema di olive di produzione industriale scadenza 25.10.2017
- 1 confezione di crema di olive di produzione industriale scadenza 25.10.2017

SCENARIO 9



- 23 confezioni di carciofini in olio di produzione domestica
- 4 confezioni di peperoni in olio di produzione domestica
- 3 confezioni di pesto di produzione domestica
- 1 confezione di marmellata ammuffita
- 3 passate di pomodoro di produzione artigianale

DOMANDA 7-8-9



DOMANDA 7: Cosa analizzo e come procedo?

DOMANDA 8: Gli alimenti di produzione industriale in confezione originale integra possono essere analizzati immediatamente oppure devo darne comunicazione alla Ditta produttrice?

DOMANDA 9: I residui alimentari di produzione industriale in confezione aperta possono essere analizzati immediatamente?

RISPOSTA 7



RISPOSTA 7:

- ✓ Sangue intero in provetta con anticoagulante
NON IDONEO PER LA RICERCA DELLE BoNTs
- ✓ Sangue in provetta con tappo rosso e gel
IDONEO
- ✓ Campione fecale e vomito
IDONEI

RISPOSTA 7



RISPOSTA 7:

- ✓ Su tutti gli alimenti di produzione domestica e sui residui in confezione aperta di quelli di produzione industriale misuro dapprima pH e Aw, scartando quelli che non supportano crescita e tossinogenesi dei clostridi produttori di tossine botuliniche

RISPOSTA 7



RISPOSTA 7:

- ✓ Dalle confezioni semivuote cerco di capire il contenuto e provo a determinare sia le tossine che i clostridi produttori di tossine botuliniche sciaccquando con tampone fosfato gelatina (dopo centrifugazione surnatante per le tossine e pellet per i clostridi produttori di tossine botuliniche)
- ✓ Se ho dubbi mi confronto con il CNRB ...

RISPOSTA 8



RISPOSTA 8:

- ✓ Trattandosi di un'analisi in condizioni di emergenza posso aprire senza attendere la risposta della Ditta, ma tuttavia devo darne comunicazione alla Ditta

RISPOSTA 9



RISPOSTA 9:

- ✓ I residui alimentari di produzione industriale in confezione aperta non hanno valore legale e possono essere analizzati immediatamente senza darne preventiva comunicazione alla Ditta produttrice

DOMANDA 10-11



DOMANDA 10: Devo dare comunicazione al Ministero della Salute delle analisi che sto effettuando? Se sì chi devo avvertire?

DOMANDA 11: Devo contemporaneamente dare comunicazione anche al CNRB? Il CNRB come mi supporterà in caso di necessità?

RISPOSTA 10



RISPOSTA 10:

- ✓ Il Ministero della Salute (DRPRE e DG SAN) devono ricevere i rapporti di prova delle analisi. Il DAV Allerta deve essere contattato immediatamente in caso di sospetto coinvolgimento di alimenti di produzione industriale

RISPOSTA 11



RISPOSTA 11:

- ✓ Anche il CNRB deve essere avvertito e deve ricevere i rapporti di prova delle analisi
- ✓ Il CNRB inoltre deve confermare i risultati del laboratorio (se positivi)
- ✓ Il CNRB fornisce supporto sia dal punto di vista analitico che dal punto di vista organizzativo. E' sempre corretto confrontarsi con il CNRB !!!!!!!!

BOTULISMO ANIMALE



BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

“Progetto Formativo Aziendale”, Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



5W



IL BOTULISMO ANIMALE

- ✓ Non è a notifica obbligatoria
- ✓ Non esiste una normativa specifica che stabilisce il flusso informativo e le responsabilità in caso di botulismo animale
- ✓ Le segnalazioni sono aumentate negli ultimi 15 anni in conseguenza delle influenze aviarie e di un'aumentata consapevolezza da parte dei medici veterinari aziendali

SCENARIO 10



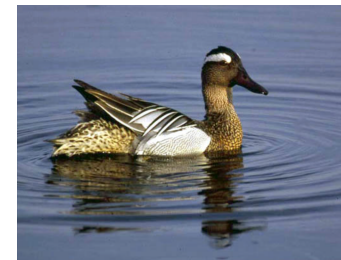
- ✓ Il veterinario aziendale pone il sospetto di botulismo animale dopo aver osservato che nell'allevamento sono presenti diversi capi che presentano una sintomatologia caratteristica, alcuni devono essere soppressi perché in fin di vita, altri muoiono spontaneamente
- ✓ Le perdite economiche per l'allevamento sono insopportabili (nei bovini la mortalità può superare il 90%)
- ✓ La produzione di latte è fortemente diminuita

SCENARIO 11



- ✓ In alcune circostanze sono gli allevatori che si trovano nelle vicinanze a denunciare le mortalità dell'altro allevamento per paura di comparsa di malattia anche tra i propri animali
- ✓ In altre circostanze non si fa notifica il focolaio per evitare il blocco sanitario del latte o della carne

SCENARIO 11



- ✓ Agenti del Corpo Forestale dello Stato, guardie Parco, associazioni ambientaliste, turisti riferisco il ritrovamento di animali morti nelle propicienze di laghi o fiumi
- ✓ Gli stessi responsabili dell'avvistamento dei morti conferiscono le carcasse all'IZS

COSA FARE?



- ✓ Cercare di individuare la fonte del contagio non limitando il campionamento ai soli individui morti, ma anche ai malati e all'ambiente circostante
- ✓ Se possibile ispezionare il luogo o l'allevamento per cercare di capire come si possa essere propagata la malattia

COSA FARE -2 ?



- ✓ Dagli animali morti prelevare per l'analisi anche fegato e milza
- ✓ Le feci rettali sono molto importanti per gli allevamenti in quanto permettono di risalire all'individuo campionato
- ✓ I campioni ambientali possono essere molto utili

PROBLEMI



- ✓ Molto spesso la diagnosi di laboratorio è compromessa dalla tardiva formulazione del sospetto clinico
- ✓ Il livello di tossina circolante nel sangue è spesso minore del limite di sensibilità dei test diagnostici
- ✓ La reticenza degli allevatori a notificare i casi/focolai impedisce una corretta diagnosi

IN CASO DI SOSPETTO...



- ✓ Confrontarsi con il CNRB
- ✓ Compilare la scheda di segnalazione di sospetto botulismo animale (anche questa scheda è scaricabile dal sito web www.iss.it/cnrb)
- ✓ Effettuare le analisi di laboratorio
- ✓ Inviare i campioni al CNRB per la conferma

SCHEDA SEGNALAZIONE BOTULISMO ANIMALE



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'
Dipartimento di Sanità Pubblica
Vigilanza e Sicurezza Alimentare



CENTRO NAZIONALE
DI RIFERIMENTO
PER IL BOTULISMO

SORVEGLIANZA DEL BOTULISMO ANIMALE

SCHEDA DI SEGNALAZIONE

Da inviare a Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo Tel. 06/4990 2254
Fax 06/4990 2045 e-mail: cnr.botulismo@iss.it - fabrizio.aunhalli@iss.it -
bruno.auricchio@iss.it

A) Caratteristiche generali

ANNO MESE REGIONE

ISTITUTO/LABORATORIO

Referente

Tel. Fax E-mail:

LUOGO del ritrovamento:

SPECIE ANIMALE (uccelli, bovini, equini, ovini, conigli, cani, gatti)

.....

FONTE SOSPETTA DI CONTAGIO

.....

B) Caratteristiche cliniche

N° APPROSSIMATIVO DI ANIMALI: Presenti malati morti

SINTOMATOLOGIA ANIMALI AMMALATI:

Sintomi neurologici:

Sintomi gastroenterici:

Sintomi sistemici:

1



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'
Dipartimento di Sanità Pubblica
Vigilanza e Sicurezza Alimentare



CENTRO NAZIONALE
DI RIFERIMENTO
PER IL BOTULISMO

RISCONTRI MACROSCOPICI DURANTE L'ESAME AUTOPTICO:

Presenza di ulcere gastriche (cavalli, bovini):

Congestione e lesioni emorragiche nel digiuno prossimale (bovini):

Coprostasi cecale (conigli):

Altro (specificare):

C) Caratteristiche ambientali della zona interessata all'episodio di sospetto botulismo:

Allevamento:

Ambiente selvatico:

Altro (specificare):

Presenza zone umide:

Presenza di carcasse di animali:

Temperatura, umidità, etc.:

Osservazioni:

.....

D) Caratteristiche del suolo:

Caratteristiche chimiche:

Osservazioni:

.....

2



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'
Dipartimento di Sanità Pubblica
Vigilanza e Sicurezza Alimentare



CENTRO NAZIONALE
DI RIFERIMENTO
PER IL BOTULISMO

E) Caratteristiche delle acque:

BOD dell'acqua stagnante: pH:

Osservazioni:

.....

F) Indagini di laboratorio per la conferma dell'episodio di botulismo

CAMPIONI BIOLOGICI ANALIZZATI:

Matrice	N. campioni analizzati	Metodo analitico	Risultato
Intestino/Stomaco			
Fegato			
Milza			
Altro (specificare)			
Altro (specificare)			
Altro (specificare)			

CAMPIONI ALIMENTARI ANALIZZATI:

Matrice	N. campioni analizzati	Metodo analitico	Risultato
Insalati			
Mangimi			
Altro (specificare)			
Altro (specificare)			
Altro (specificare)			

3



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'
Dipartimento di Sanità Pubblica
Vigilanza e Sicurezza Alimentare



CENTRO NAZIONALE
DI RIFERIMENTO
PER IL BOTULISMO

CAMPIONI AMBIENTALI ANALIZZATI:

Matrice	N. campioni analizzati	Metodo analitico	Risultato
Acqua			
Fango			
Larve/pupe			
Mat. in decomposizione			
Altro (specificare)			
Altro (specificare)			
Altro (specificare)			

LABORATORIO CHE HA EFFETTUATO L'ANALISI:

Laboratorio:

Referente per le analisi:

Indirizzo:

Tel.: Fax:

e-mail:

.....

Data

IL COMPILATORE DELLA SCHEDA

(nome leggibile)

4

www.iss.it/cnrb



BOTULISMO UMANO ED ANIMALE. DIAGNOSI DI LABORATORIO

"Progetto Formativo Aziendale", Istituto Zooprofilattico Sperimentale

del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Roma, Via Appia Nuova, 1411 - 29 Novembre 2016



CONCLUSIONI

CONCLUSIONI

- ✓ Il botulismo è una malattia rara
- ✓ E' necessario sensibilizzare la classe medica rispetto alla malattia
- ✓ La corretta gestione di un caso/focolaio di botulismo richiede l'azione combinata di diverse figure professionali
- ✓ La conoscenza della storia clinica del paziente è molto utile per interpretare i risultati delle analisi di laboratorio



CONCLUSIONI

- ✓ Il CNRB fornisce supporto 24/7
- ✓ Il sito web www.iss.it/cnrb contiene tutte le informazioni di urgenza, i metodi di analisi con i relativi dati di validazione, le indicazioni per la corretta preparazione delle conserve domestiche
- ✓ I risultati analitici devono essere confermati dal CNRB



Grazie per l' attenzione!