

Biodefensa: un nuevo desafío para la microbiología y la salud pública

Unidad de Alerta y Emergencias del Centro Nacional de Microbiología (UAE-CNM). Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. *Integrantes de la UAE-CNM por orden alfabético:* M.^a José Buitrago Serna^a, Inmaculada Casas Flecha^a, José M.^a Eiros-Bouza^{a,b}, Raquel Escudero Nieto^a, Cesare Giovanni Fedele^a, Isabel Jado García^a, Francisco Pozo Sánchez^a, José Miguel Rubio Muñoz^a, M.^a Paz Sánchez-Seco Fariñas^a, Sylvia Valdezate Ramos^a y José Verdejo Ortes^a

^aCentro Nacional de Microbiología. ISCIII. Majadahonda. Madrid. ^bFacultad de Medicina de Valladolid. España.

El bioterrorismo y el uso potencial de armas biológicas se ha convertido en una preocupación importante de los gobiernos y autoridades competentes. Como ejemplo, el envío de cartas con esporas del agente causante del carbunco en Estados Unidos en 2001 ocasionó varias muertes, causó pánico y tuvo repercusiones negativas en la economía mundial. Si este incidente, a pequeña escala, produjo semejante impacto, los efectos de un ataque masivo podrían ser catastróficos. En muchos países éste fue el punto que marcó el inicio de la toma de medidas encaminadas a prevenir y responder ante amenazas y actos bioterroristas, acciones que, en su conjunto, se conocen como *biodefensa*. Este artículo pretende analizar someramente algunos aspectos relacionados con la detección e identificación de este tipo de acciones y los agentes biológicos implicados. Se considera el diagnóstico microbiológico que permite la identificación del agente causal, punto clave para la toma de medidas de control adecuadas.

Palabras clave: Bioterrorismo. Biodefensa. Diagnóstico microbiológico.

Biodefense: A new challenge for microbiology and public health

Bioterrorism and the potential use of biological weapons has become an important concern of governments and responsible authorities. An example of this threat occurred in 2001 in the USA, when letters were sent containing spores of the agent that produces anthrax; this resulted in some deaths, and caused panic and negative effects on the world economy. If this small-scale event was able to cause such a huge impact, the repercussions of a massive attack could be catastrophic. In many countries, these events have resulted in the implementation of measures directed

toward preventing and responding to bioterrorist threats and acts. As a whole, these measures are known as biodefense. This article briefly analyzes several aspects related to detecting and identifying acts of bioterrorism, and considers the biological agents that are implicated. The microbiological diagnosis that allows identification of the causal agent, a key point for taking suitable control measures, is also included.

Key words: Bioterrorism. Biodefense. Microbiological diagnosis.

Antecedentes

La diseminación intencionada de microorganismos patógenos, o de sustancias de origen biológico, para producir daños económicos y/o sanitarios al causar la muerte o la enfermedad en seres humanos, animales o plantas, o sencillamente con la única finalidad de provocar pánico en la población, es una posibilidad que está generando una creciente preocupación en los últimos años. La aparición de una nueva forma de terrorismo caracterizado por llevar a cabo acciones tremendamente impactantes en la opinión pública, ha puesto en situación de alerta tanto a los sistemas de seguridad como a los de salud pública de numerosos países, que deben adoptar medidas para hacer frente a una eventual acción terrorista en la que se emplee material biológico como arma de destrucción masiva. La biodefensa engloba el conjunto de acciones emprendidas para la prevención y respuesta ante situaciones de alerta y emergencia sanitarias generadas por el bioterrorismo.

La utilización intencionada de agentes microbianos o toxinas procedentes de organismos vivos en campañas militares es un hecho conocido y que se ha venido produciendo, aunque de forma esporádica, ya desde la antigüedad^{1,2}. Sin embargo, el potencial de estos mismos agentes biológicos con fines bioterroristas no se observó hasta 1984, cuando los integrantes de una secta religiosa provocaron un brote por *Salmonella typhimurium* contaminando intencionadamente varios restaurantes-buffet en la localidad de Dallas, Oregon³. No obstante, la dispersión intencionada de esporas de *Bacillus anthracis* después del ataque terrorista del 11 de septiembre de 2001 en Estados Unidos fue el hecho que desencadenó que las autoridades americanas y del resto del mundo, comenzasen a considerar se-

Correspondencia: Dra. R. Escudero Nieto.
Centro Nacional de Microbiología. ISCIII.
Ctra. Majadahonda-Pozuelo, km 2. 28220 Majadahonda. Madrid. España.
Correo electrónico: rescude@isciii.es

Manuscrito recibido el 7-10-2005; aceptado el 7-6-2006.

riamente el impacto social y los efectos en la salud pública que podrían llegar a causar este tipo de ataques terroristas⁴.

Aunque hasta el momento la morbilidad ocasionada por los ataques terroristas en los que se han utilizado agentes biológicos ha sido baja, determinados microorganismos pueden considerarse potenciales armas de destrucción masiva, ya que cantidades mínimas de los mismos pueden causar un importante número de víctimas. Además, su adquisición, transformación en armas biológicas y su diseminación, en teoría, son relativamente fáciles¹. No obstante, existen factores que dificultan la diseminación a gran escala de estos agentes, como sugiere el hecho de que la secta "Aum Shinrikyo", la misma que liberara gas sarín en el metro de Tokio en 1995, intentara sin éxito aparente varios actos de bioterrorismo entre 1990 y 1995 en Japón⁵.

En los últimos años, la preocupación creciente derivada de las amenazas bioterroristas ha provocado que, en la literatura científica, el número de publicaciones con los términos "bioterrorismo" o "biodefensa" que aparecen en las bases de datos se haya incrementado de manera exponencial (fig. 1). Existen incluso algunas guías para encontrar con facilidad la información requerida⁶.

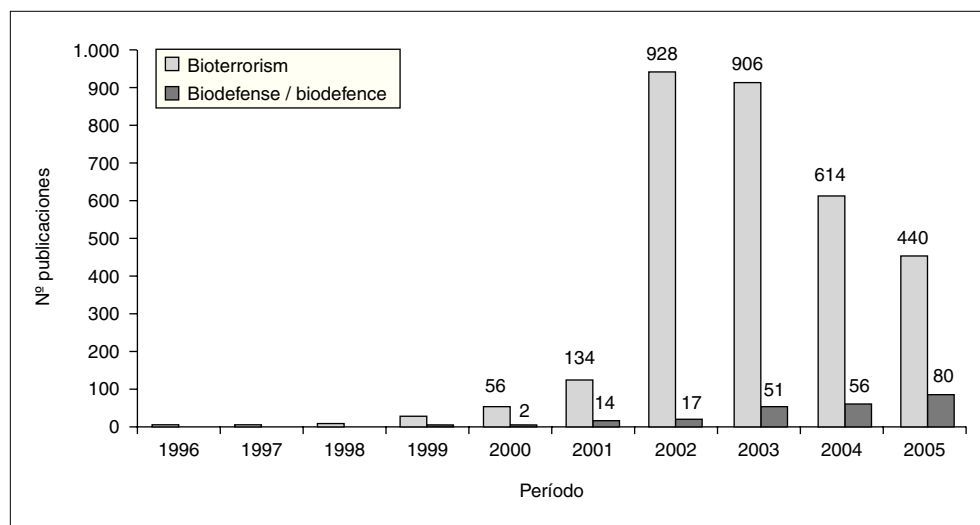
Paralelamente, las autoridades sanitarias de un gran número de países han puesto en marcha programas de vigilancia epidemiológica y respuesta frente a las enfermedades infecciosas emergentes, ya sea su aparición debida a mecanismos naturales o por dispersión intencionada del agente causal⁷. En Europa, son muchos los esfuerzos que se están realizando en este sentido. Así, tras la creación en 1998 de la Red de Vigilancia Epidemiológica y Control de las Enfermedades Transmisibles⁸ surgió, en el año 2002, la DG-SANCO (Dirección General de Sanidad y Protección de los Consumidores de la Comisión Europea) que coordina las actividades entre los distintos estados miembros y da cabida a una serie de Redes Europeas como: EURO-NET-P4 (European Union Response Network for P4 Virus Infections), ENIVD (European Network for Diagnostics of Imported Viral Diseases) y GHSAG (Global Health Security Actin Group Laboratory Network) (http://europa.eu.int/comm/health/ph_threats/com/comm_diseases_ne

works_en.htm). Por otro lado la Organización Mundial de la Salud (OMS) cuenta con el Departamento de Vigilancia y Respuesta de Enfermedades Declarables (Department of Communicable Disease Surveillance and Response, CSR) y con la Red Global de Alerta y Respuesta frente a brotes epidémicos (The Global Outbreak Alert and Response Network, GOARN). La medida más reciente es, probablemente, la tomada en abril de 2004 por el Parlamento Europeo y el Consejo de la Unión Europea⁹ que legislaron la creación de una agencia independiente, el Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades (The European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC), inaugurado en Estocolmo en mayo de 2005, que tiene entre sus tareas principales la vigilancia epidemiológica, la alerta precoz y respuesta rápida, los dictámenes científicos y la asistencia técnica a los estados miembros y terceros países, así como la identificación de nuevas amenazas sanitarias.

En España, existen diversas redes epidemiológicas y de laboratorios, además de unidades de respuesta rápida ante situaciones de alerta y emergencias sanitarias a nivel local y central como la creada en el año 2003 por el Ministerio de Sanidad y Consumo integrada en el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Entre sus objetivos está la organización, planificación y ejecución de respuestas en este tipo de situaciones.

Los esfuerzos gubernamentales para incrementar el nivel de preparación de un país frente a los posibles ataques bioterroristas, además de apoyarse en un sistema de comunicación fluido y eficiente, deberían sostenerse en tres pilares básicos: a) creación o mejora de las redes de vigilancia epidemiológica que posibiliten la rápida detección de brotes; b) potenciación de la atención primaria, creando la infraestructura y los programas adecuados que posibiliten la atención médica, aislamiento, administración de vacunas, profilaxis o medicamentos de forma masiva, en caso de que sea necesario, y formando al médico de atención primaria, que sería el primer eslabón de la cadena en afrontar casos de infección debidos a ataques bioterroristas, y c) establecimiento de un diagnóstico microbiológico rápido y sensible, acelerando la investigación y el desarrollo de sistemas de diagnóstico precoz, así como promovien-

Figura 1. Evolución del número de publicaciones recogidas en PubMed (Medline) asociadas a bioterrorismo/biodefensa en la última década.



do una red de laboratorios donde se puedan manipular con total seguridad los principales microorganismos con más posibilidades de ser utilizados con fines bioterroristas¹⁰.

Vigilancia

Los sistemas de vigilancia son herramientas fundamentales en el ámbito de la salud pública de un país. Cuando se trata de detectar un ataque bioterrorista estos sistemas deben ser sensibles y específicos para identificar los agentes implicados y deben analizar los datos e informar en un tiempo breve. Debe existir, además, un plan de coordinación que abarque de manera integrada todo el Sistema de Salud Pública a nivel local, de comunidades autónomas y de instituciones centrales.

Determinados factores inducen a sospechar que una infección se ha originado como consecuencia de un ataque bioterrorista. En primer término la constatación de un aumento rápido (en el plazo de horas o días) del número de enfermos en una población en la que no se conoce la existencia de factores de riesgo¹¹⁻¹³. En segundo lugar la identificación de pacientes con un síndrome febril o con una focalidad respiratoria o gastrointestinal, que evolucionan hacia la gravedad¹⁴. Además en relación con este último aspecto, se considera como elemento de sospecha la asistencia a un número de casos de evolución fatal mayor de lo esperado¹⁵. Debe, así mismo, constituir un signo de alerta la atención a algún paciente con una enfermedad inusual entre quienes no se encuentran expuestos al agente por su trabajo o su lugar de residencia^{14,16}. En última instancia cabe considerar el hecho de evaluar a un sujeto que, si bien presenta una enfermedad endémica en su área, aparece en un tiempo no habitual o con un patrón clínico no característico^{17,18}.

En Estados Unidos, en respuesta a los acontecimientos de 2001, se han desarrollado en los últimos años numerosos sistemas de vigilancia sindrómica¹⁹⁻²¹. Este tipo de sistemas monitorizan las visitas a urgencias y las admisiones hospitalarias así como los síntomas asociados a dichas visitas. El objetivo es detectar en tiempo real cualquier acontecimiento relacionado con un incidente de bioterrorismo. Estos métodos de análisis se basan en las teorías matemáticas de detección de señales y de decisión. Requieren, por tanto, una cooperación multidisciplinar en la que participen expertos en Salud Pública, epidemiólogos, bioestadísticos, economistas e informáticos²². Uno de estos sistemas (Real-time Outbreak and Disease Surveillance, RODS) se probó en el año 2002 durante los juegos olímpicos de invierno en Salt Lake City²³. El éxito de dichos sistemas dependerá del modo en que se integren en el Sistema de Salud Pública²⁴ aunque pocos de ellos han sido

evaluados clínicamente y se ha criticado su heterogeneidad respecto a los síndromes vigilados y el tipo de datos que recogen^{25,26}.

En general, la vigilancia debe basarse en la detección de fenómenos no habituales, ya sea la aparición de determinados síndromes o un aumento en la morbimortalidad o en el consumo de determinados fármacos. Esta vigilancia debe realizarse de manera comparativa en el tiempo y en el espacio, debe emplear todos los medios informáticos disponibles e integrar todos los sistemas de alerta epidemiológica existentes en el país. La realidad española obliga a realizar un esfuerzo aglutinador entre las Direcciones Generales de Salud Pública de las diferentes Comunidades Autónomas, en el que el papel del ISCIII, como órgano científico-técnico del Ministerio de Sanidad y Consumo, resulta fundamental.

Atención clínica

Los profesionales sanitarios que prestan las primeras atenciones médicas, y de forma especial, médicos de asistencia primaria y de servicios de urgencia, deberían mantener un cierto índice de sospecha frente a casos asociados a bioterrorismo y, por consiguiente, estar entrenados en este área.

Para establecer un diagnóstico del proceso, éste tiene que abordarse según el cuadro sindrómico que presente el paciente. Los aspectos a considerar serían los siguientes: a) cuadro clínico, síntomas, signos e información procedente de exploraciones complementarias específicas en función de la sospecha clínica; b) antecedentes que se pueden establecer mediante anamnesis y que pueden aludir en cada paciente a diferentes aspectos relativos a la propia historia, su entorno y actitud personal. En la tabla 1 se ilustran 19 variables distribuidas en la triple categorización aludida, en un intento de recomendar una sistemática útil a la hora de valorar los antecedentes de un individuo potencialmente afectado por una enfermedad infecciosa provocada por un microorganismo implicado en bioterrorismo²⁷. Es importante finalizar con una pregunta abierta, donde se invite al paciente a narrar lo que él considere de interés clínico. Se complementa la anamnesis mediante la convencional por aparatos, común a otras áreas de la medicina; c) manejo terapéutico de los pacientes antes de conocer el diagnóstico y ante procesos específicos, y d) control de los contactos y medidas de aislamiento.

Es evidente que la mayor parte de estos aspectos corresponden a la práctica clínica general. Sin embargo, también es necesario hacer énfasis en aspectos socioepidemiológicos, manteniendo un elevado índice de sospecha, y ante cualquier duda proceder a las medidas terapéuticas y pre-

TABLA 1. Diferentes variables que hay que incluir en una anamnesis sistemática que establezca los antecedentes de interés valorables en un paciente potencialmente infectado por un microorganismo implicado en bioterrorismo

Historia	Entorno	Actitud personal
Desde el nacimiento	Residencia	Ingesta alimentaria
Enfermedades previas	Alergias	Consumo de alcohol
Ingresos hospitalarios	Medicación	Empleo de drogas
Cirugía	Actividad sociolaboral	Comportamiento sexual
Transfusiones	Ocio	Viajes
Antecedentes familiares	Casos en convivientes	Pregunta abierta
	Contacto con animales	

De Eiros-Bouza et al, 2003²⁷.

ventivas adecuadas, así como a la declaración epidemiológica basada en los siguientes procesos específicos o cuadros sindrómicos:

1. Síndromes febriles sin focalidad: en la práctica se trata de síndromes poco frecuentes ya que la valoración clínica, analítica y radiológica inicial suele identificar una focalidad concreta. En caso contrario, hay que tener presentes cuadros como la peste septicémica, tularemia, brucelosis, o bien considerar que puede tratarse de la primera manifestación de un cuadro que adquirirá focalidad según evolucione, como es el caso de algunas fiebres hemorrágicas.

2. Síndromes respiratorios: incluyen ántrax, peste neumónica, tularemia, brucelosis, fiebre Q, gripe o cuadro semejante a gripe, síndrome pulmonar por hantavirus, así como la exposición a ricino o a la enterotoxina B estafilocócica. El diagnóstico diferencial debe incluir desde la neumonía adquirida en la comunidad, cuadros de afectación pulmonar en el contexto de un proceso generalizado como, por ejemplo, infecciones virales, rickettsiosis, incluyendo procesos no infecciosos, como exposición a tóxicos o incluso embolismo pulmonar. La radiografía de tórax es una herramienta clínica esencial.

3. Síndromes neurológicos: la sospecha de botulismo es obligada en cuadros con diplopía, disartria, disfonía y disfagia, seguido de parálisis flácida simétrica. El diagnóstico diferencial debe incluir el síndrome de Guillain-Barré y la poliomiélitis. Los episodios de encefalitis presentan, en general, una clínica superponible. El diagnóstico diferencial de las encefalitis causadas por alfavirus debe incluir las infecciones por el virus herpes simple, enterovirus y flavivirus.

4. Síndromes digestivos: la presencia de procesos compatibles con gastroenteritis obliga a descartar los microorganismos habitualmente responsables de estos procesos tales como especies de los géneros *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Rotavirus* y *Norovirus* así como algunos adenovirus.

5. Fiebres hemorrágicas, como la fiebre de Marburg y de Ébola: presentan manifestaciones clínicas muy particulares acompañadas de trastornos de la coagulación característicos. Inicialmente, pueden presentarse como cuadros febriles sin focalidad y se debe descartar meningococemia, leptospirosis, malaria, púrpura trombocitopénica o síndrome hemolítico urémico.

6. Procesos que cursan con exantema: se debe tener en cuenta que los exantemas hemorrágicos pueden observarse en el contexto de fiebres hemorrágicas o como expresión de coagulopatía de consumo en procesos sépticos. En este sentido, se debe considerar en el diagnóstico diferencial la

leptospirosis icterohemorrágica. Por último, los exantemas no hemorrágicos pueden obedecer a múltiples agentes, aunque si se está en el contexto de una acción bioterrorista, el mayor índice de sospecha debe ser para la viruela. El diagnóstico diferencial de la viruela debe incluir las infecciones por el virus varicela-zóster, en forma de varicela o de herpes zóster diseminado, así como algún representante del género *Orthopoxvirus*, como el virus de la viruela de los monos (monkeypox virus)²⁸.

En general, el tratamiento de los pacientes no diferirá de la práctica clínica habitual hasta que se identifique el agente causal o existan razones para sospechar un ataque bioterrorista. En ese caso se extremarán las precauciones universales y se valorará el uso de antibióticos, antitoxinas, vacunas, y aislamiento con o sin presión negativa, entre otras medidas. Revisiones de algunos aspectos relacionados pueden encontrarse en las guías elaboradas en 2004 por Bossi et al²⁹.

Diagnóstico microbiológico

Potenciales agentes bioterroristas

Algunos de los factores que hacen que un patógeno o una toxina sean considerados adecuados para ser utilizados como armas biológicas se han recogido en la tabla 2¹. Dichos factores pueden agruparse en dos grandes categorías: los que vienen directamente determinados por las propiedades del microorganismo o de la toxina, y aquellos que dependen de las condiciones medioambientales y las capacidades de respuesta y prevención de los sistemas de salud. Así, las condiciones medioambientales de una zona son determinantes sobre todo cuando se trata de agentes transmitidos por vectores o cuando el efecto sobre el hombre es indirecto, afectando a la economía, mediante la infección de animales y/o vegetales. Por otro lado, el estado inmunológico o accesibilidad a vacunas y profilaxis de la población así como la preparación de los Sistemas de Salud para responder a dichos ataques implican también diferencias en el efecto que puede causar un determinado patógeno en distintas regiones y en diferentes poblaciones. Este hecho se refleja, por ejemplo, en los distintos requerimientos para la protección de un ejército en acciones bélicas frente a los de la población civil. Todas estas variables determinan que un agente de alta prevalencia y baja morbilidad en una región se pueda considerar como agente potencialmente bioterrorista en otra³⁰.

Diferentes instituciones nacionales y organismos internacionales han confeccionado listados de agentes biológicos con capacidad de ser usados con fines terroristas ba-

TABLA 2. Factores que influyen en la consideración de un patógeno o una toxina como susceptible de ser utilizado como arma biológica

Factores propios del agente	Factores externos al agente
Capacidad de aerosolización	Condiciones medioambientales
Estabilidad	Disponibilidad de tratamientos específicos y acceso de la población a los mismos
Transmisión persona a persona	Posibilidad de vacunación
Potencial de diseminación	Preparación de los sistemas de salud
Naturaleza incapacitante o letal	Estado inmunológico de la población
Período de incubación	Posibilidad de obtención a partir de fuentes naturales o no controladas
	Capacidad de producción a gran escala

TABLA 3. Agentes de uso potencial en bioterrorismo

Agentes	Enfermedad	RB	1	2	3	4	5	6	7
Bacterias									
<i>Bacillus anthracis</i>	Carbunco	3	x	x	x	x	x	x	A
<i>Yersinia pestis</i>	Peste	3	x	x	x	x	x	x	A
<i>Francisella tularensis</i>	Tularemia	3	x	x	x	x	x	x	A
<i>Coxiella burnetii</i>	Fiebre Q	3	x	x	x	x	x	x	B
<i>Brucella melitensis</i>	Brucelosis	3	x	x	x	x	x	x	B
<i>Burkholderia mallei</i>	Muermo	3	x	x	x	x	—	x	B
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Melioidosis	3	x	x	x	x	x	x	—
<i>Chlamydia psittaci</i>	Psittacosis	3	x	—	—	—	x	—	—
<i>Rickettsia</i> spp.	Fiebre tifoidea/fiebre botonosa	3	x	x	x	x	x	x	—
Toxinas									
<i>Clostridium botulinum</i>	Botulismo	*	ND	x	x	ND	x	x	A
<i>Clostridium perfringens</i>	Gangrena gaseosa, enterotoxemia	*	ND	—	x	ND	x	x	B
<i>Staphylococcus aureus</i>	Shock tóxico	*	ND	x	x	ND	x	x	B
<i>Ricinus communis</i>	Ricino	*	ND	x	x	ND	x	x	B
<i>Trichothecenes</i>	Shock tóxico	*	ND	x	x	ND	x	x	—
Virus									
Variola	Viruela	4	x	x	—	x	x	x	A
<i>Filovirus</i>	FH	4	—	—	—	x	x	x	A
<i>Arenavirus</i> (FHV)	FH	4	—	—	—	x	x	x	A
Virus de Crimea-Congo	FH	4	—	x	—	x	x	x	C
Fiebre del Valle del Rift	FH	3	—	x	—	x	x	x	C
<i>Flavivirus</i>	FH o encefalitis	3	x	x	—	x	x	x	C
<i>Alphavirus</i> (encefalitis)	Encefalitis	3	x	x	—	x	x	x	B
<i>Hantavirus</i>	FH o síndrome pulmonar	3	—	x	—	x	x	x	C
Influenza	Gripe	2	x	x	—	—	x	—	—
Hongos									
<i>Coccidioides immitis</i>	Coccidioidomicosis	3	x	x	—	—	x	—	—
Parásitos									
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Criptosporidiasis	2	—	—	—	—	—	—	B
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmosis	2	—	x	—	—	—	—	—
<i>Schistosoma</i> spp.	Schistosomiasis	2	—	x	—	—	—	—	—

RB: riesgo biológico según el Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo. BOE n.º 124. *no se recoge en dicho Real Decreto; 1-7: se indica si se recoge (x) o no (—) dicho patógeno, grupo de patógenos o toxinas en las clasificaciones realizadas por diversos organismos: 1, Naciones Unidas; 2, OMS; 3, Convención de Armas Biológicas; 4, Grupo Australiano; 5, OTAN; 6, Grupo de Estados miembros de la Convención para la Prohibición, Desarrollo y Almacenaje de Armas Biológicas y Químicas; 7, CDC. ND: información no disponible.

Modificada de Public Health Response to Biological and Chemical Weapons. WHO guidance. 2.ª ed. 2004³¹.

sándose en los factores previamente mencionados³¹. Algunas de estas clasificaciones se recogen en la tabla 3. Posiblemente la más extendida sea la de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) que agrupa los posibles agentes bioterroristas en tres categorías según el riesgo que estos pueden suponer para la seguridad de este país¹⁰. La categoría A incluye los agentes considerados de riesgo más elevado (virus de la viruela y *B. anthracis*, entre otros) que son los de fácil diseminación, incluso transmisión persona a persona, y que pueden producir una elevada mortalidad. La categoría B está constituida por aquellos agentes cuya diseminación es relativamente fácil, moderada morbilidad y baja mortalidad. En esta categoría se recogen algunos patógenos transmitidos por alimentos, por agua o por artrópodos. Y, por último, la categoría C donde se incluyen patógenos emergentes de relativamente fácil obtención, manejo y diseminación, y con morbilidad y/o mortalidad potencialmente altas.

La revisión de estos listados debería realizarse de manera periódica y constante puesto que la aparición de nuevos agentes o nuevas variantes, la erradicación de otros o las mejoras y adaptaciones de los sistemas sanitarios hacen que las amenazas a la salud de la población se vean modificadas.

Técnicas de detección de agentes implicados en bioterrorismo

La respuesta ante un ataque biológico ha de ser rápida para poder interrumpir la propagación del patógeno e impedir la aparición de nuevos casos. Para ello es necesaria la detección temprana y precisa del agente causal. En este tipo de agresiones existe un componente ambiental relacionado con la liberación del agente y un componente humano que se traduce en la aparición de casos clínicos. La detección previa a la aparición de este tipo de casos, en muestras ambientales contaminadas, conlleva la posibilidad de actuación en las primeras fases del ataque. La implementación de sistemas de vigilancia medioambiental (vectores, fuentes de abastecimiento de agua, etc.) con una metodología adecuada resulta por tanto imprescindible en la prevención de situaciones de riesgo. Sin embargo se requiere un enfoque diferente y escapa a los objetivos planteados en este artículo.

Como ya se ha dicho, en la mayoría de los casos el primer contacto con el enfermo tendrá lugar a nivel de atención primaria, siendo el diagnóstico microbiológico en el laboratorio necesario para la confirmación de las observaciones clínicas. El paciente presentará una sintomatología determinada que estará enclavada en alguno de los cuadros descritos previamente y el diagnóstico microbiológico

debe incluir aquellos agentes causales susceptibles de producir dicho cuadro. Si existe sospecha de un ataque bioterrorista, debe hacerse un diagnóstico de exclusión de los potenciales agresivos biológicos y diferencial entre los patógenos más prevalentes que facilite la identificación del agente causal. Esta forma de actuación posibilita la intervención temprana influyendo en el pronóstico y selección de un tratamiento terapéutico adecuado del paciente facilitando la instauración de medidas de control tales como la movilización de suministros y personal en las áreas de exposición.

La visualización directa a partir de la muestra clínica permite establecer un diagnóstico de forma muy precisa, sin embargo, en numerosas ocasiones la cantidad de agente presente es insuficiente y se puede requerir su cultivo. No debe olvidarse que muchos de estos patógenos requieren ser manipulados, especialmente para su crecimiento, en laboratorios de alto nivel de bioseguridad (3, y 4 para algunos virus)^{32,33}. Por otra parte, el tiempo necesario para el crecimiento y, en ocasiones, la dificultad intrínseca a algunos de estos agentes hace que el cultivo de los mismos no sea la metodología de elección para un diagnóstico precoz. Otras técnicas utilizadas en el diagnóstico tradicional basadas en la detección de antígenos específicos mediante enzimoimmunoensayo o inmunofluorescencia directa (ELISA o IFD) o de sus genomas a través de la amplificación mediante técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) pueden alcanzar una extraordinaria sensibilidad y evitan la necesidad de cultivo al conseguirse la detección específica sin necesidad del crecimiento del patógeno y posibilitando el trabajo directo con la muestra clínica. La detección de respuesta inmunitaria mediante técnicas serológicas es también de gran utilidad pero hay que tener en cuenta que la seroconversión se produce días o semanas después de la infección primaria.

Se deben establecer protocolos de actuación encaminados a la rápida identificación de los cuadros clínicos sospechosos, inmediata toma de muestras y uso de técnicas rápidas de detección del agente causal. La adopción de medidas previamente elaboradas y coordinadas en los centros implicados en los fenómenos de biodefensa puede facilitar y acelerar la respuesta, por ejemplo, mediante la inactivación de algunas muestras en el momento de su recogida que evitaría manipulaciones adicionales. Esto puede ser de especial importancia en el manejo de pacientes con sospecha de padecer infecciones por patógenos de nivel 4 pues evita exposiciones innecesarias del personal biosanitario y acelera la obtención de resultados.

La metodología de uso más frecuente, como se ha comentado, se basa en técnicas clásicas de ELISA, inmunofluorescencia, cultivo, y/o PCR³⁴. Sin embargo, nuevos desarrollos tecnológicos como la PCR en tiempo real están permitiendo disminuir el tiempo de detección sin reducir la sensibilidad de las técnicas³⁵. Por otra parte, la investigación en matrices (macro y micro "arrays") de ácidos nucleicos o de proteínas así como la utilización de biosensores, probablemente, marca la línea de evolución que seguirá la metodología de diagnóstico en un futuro próximo.

En la tabla 4 se destacan algunos aspectos asociados a la prevención y/o profilaxis de infecciones producidas por

ciertos agentes biológicos de especial agresividad, a las técnicas utilizadas en su diagnóstico, haciendo mención a las disponibles en los laboratorios integrados en el Centro Nacional de Microbiología (CNM) del ISCIII, y a algunas propiedades del agente^{36,37}. Se han incluido agentes de relativa fácil transmisión (p. ej., *B. anthracis*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Clostridium botulinum*, virus variola, *Filovirus* y *Arenavirus* causantes de fiebres hemorrágicas), patógenos transmitidos por agua y alimentos (p. ej., *Vibrio cholerae* O1 y O139, *Salmonella* spp., *Cryptosporidium parvum*), patógenos transmitidos por vectores artrópodos (p. ej., alfavirus productores de encefalitis, *Plasmodium falciparum*), hongos patógenos primarios (p. ej., *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*), organismos productores de toxinas (p. ej., *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Ricinus communis*)^{16,38,39} así como diferentes especies de hongos productores de las toxinas conocidas como Trichothecenes⁴⁰. Además se han incluido los hantavirus como ejemplo de patógenos emergentes y al virus de la gripe por la posibilidad que presenta de destrucción de explotaciones animales y su elevado potencial pandémico.

Conclusiones

Aunque existen antecedentes históricos de agresiones biológicas, ha sido en los últimos años cuando la guerra biológica y el bioterrorismo han adquirido un inquietante protagonismo en la comunidad internacional. A pesar de que el uso masivo de armas convencionales continúa siendo el modo que predomina en las agresiones, la posibilidad del empleo de agentes biológicos está obligando a establecer diversas estrategias en la biodefensa. Ésta, se basa en la creación y desarrollo de diversas herramientas: *a)* incorporación a los sistemas de vigilancia epidemiológica de los medios adecuados para la detección precoz de agresiones biológicas; *b)* creación de centros diagnósticos especializados que permitan la rápida identificación de los agentes que potencialmente puedan emplearse como armas; *c)* desarrollo de técnicas microbiológicas de diagnóstico rápido para uso en los centros anteriormente citados, e incluso, en los lugares expuestos a agresiones; *d)* entrenamiento del personal médico y paramédico en la sospecha, detección rápida y actitudes que hay que adoptar en situaciones de sospecha o confirmación de ataques biológicos; *e)* establecimiento de dotaciones adecuadas para abordar estas situaciones en los centros hospitalarios y en las asistencias extrahospitalarias, tanto médicas como paramédicas; *f)* entrenamiento y dotación adecuado de policía y personal militar, con la creación de unidades especializadas. Y, por último pero no menos importante, y *g)* creación de redes de trabajo y centros de coordinación a nivel nacional e internacional.

Agradecimientos

Los integrantes de la Unidad de Alerta y Emergencias del ISCIII agradecen al personal del Centro Nacional de Microbiología del ISCIII su colaboración.

TABLA 4. Características de agentes biológicos y toxinas de potencial uso en bioterrorismo

Agentes	Descripción	Tipo de muestra	Técnicas diagnósticas	Tratamiento/profilaxis/vacunas
Bacterias				
<i>Bacillus anthracis</i>	Bacilo grampositivo esporógeno	Exudado de lesión, hisopo nasal, esputo, secreciones respiratorias inducidas, sangre, suero, heces	Cultivo y Gram. ELISA ¹ (retrospectivo). Detección de antígeno ² . PCR	Ciprofloxacino, doxiciclina Vacunas de uso restringido en personal de riesgo: atenuada y enriquecida con factores de virulencia
<i>Yersinia pestis</i>	Bacilo gramnegativo no fermentador	Sangre, suero, esputo, aspirado de bubones, exudado faríngeo, secreciones respiratorias inducidas	Cultivo y Gram. ELISA ¹ . Detección de antígeno ² . PCR	Estreptomicina, ciprofloxacino, gentamicina. Cloranfenicol en el caso de infección del SNC Vacuna inactivada de uso restringido (actualmente no se recomienda ni se fabrica)
<i>Francisella tularensis</i>	Cocobacilo gramnegativo, aerobio estricto	Sangre, suero, esputo, muestras cutáneas y de tejido linfático y exudado faríngeo	Cultivo. Microaglutinación. Detección de antígeno ² . PCR	Ciprofloxacino, doxiciclina. Cloranfenicol en el caso de infección del SNC Vacuna viva atenuada de uso restringido
<i>Coxiella burnetii</i>	Cocobacilo gramnegativo intracelular obligado	Sangre, suero, médula ósea y tejidos (placenta, hígado y válvula cardíaca)	Cultivo. FC. IFD. IFI. PCR	Doxiciclina. Vacuna no disponible
<i>Chlamydia psittaci</i>	Cocobacilo gramnegativo intracelular obligado	Suero y muestras respiratorias y muestra de conjuntiva	FC. IFI. PCR	Doxiciclina, eritromicina Vacuna no disponible
<i>Rickettsia</i> sp.	Cocobacilo gramnegativo intracelular obligado	Sangre, suero, tejido cutáneo	Cultivo. IFI. PCR	Doxiciclina Vacuna no disponible
<i>Brucella melitensis</i>	Cocobacilo gramnegativo	Sangre, suero, médula ósea y tejido	Cultivo. Rosa de Bengala ¹ , SAT ¹ . PCR	Doxiciclina más rifampicina Vacuna no disponible en humanos
<i>Burkholderia mallei</i> y <i>B. pseudomallei</i>	Bacilo gramnegativo no fermentador	Sangre, suero, esputo, orina y lesiones de piel	Cultivo. PCR	Ceftazidima, doxiciclina, trimetoprima-sulfametoxazol, ciprofloxacino Vacuna no disponible
<i>Vibrio cholerae</i> O1 y O139	Bacilo gramnegativo curvado	Heces	Cultivo. Aglutinación por látex. PCR	Rehidratación, tetraciclinas, cotrimoxazol (niños), eritromicina (embarazadas). Agua de bebida potable, correcta eliminación de excretas Vacunas en experimentación
<i>Salmonella</i> spp. (incluida <i>S. typhi</i>)	Bacilo gramnegativo no fermentador	Sangre, heces, orina, fluidos articulares y de drenajes y LCR	Cultivo y Gram. Aglutinación. Fagotipia. PCR	Ceftriaxona, ciprofloxacino, cotrimoxazol, amoxicilina Vacuna oral atenuada (<i>S. typhi</i>)
Toxinas				
<i>Clostridium botulinum</i>	Bacilo grampositivo anaerobio esporógeno, productor de toxinas	Suero, heces, aspirado gástrico	Cultivo ¹ . Detección de la toxina ¹ . PCR	Antitoxina trivalente (A, B y E) Vacuna no disponible
<i>Clostridium perfringens</i>	Bacilo grampositivo anaerobio esporógeno, productor de toxinas	Heces	Cultivo ¹ . Detección de la toxina ¹ . PCR	Reposición de fluidos y electrolitos (enterotoxemia). Desbridamiento quirúrgico, penicilina G, oxígeno hiperbárico (gangrena gaseosa) Vacuna y antitoxina no disponible

(Continúa)

TABLA 4. Características de agentes biológicos y toxinas de potencial uso en bioterrorismo (Continuación)

Agentes	Descripción	Tipo de muestra	Técnicas diagnósticas	Tratamiento/profilaxis/vacunas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coco grampositivo aerobio	Suero, orina, muestras respiratorias	Detección de enterotoxina B ¹ . RPLA ¹ . PCR	Tratamiento de soporte, aporte de fluidos, esteroides Vacuna y antitoxina no disponible
<i>Ricinus communis</i>	Semillas de arbusto	Suero, orina, muestras respiratorias	ELISA ¹ . Detección de antígeno. PCR ¹	Vacuna y antitoxina no disponible
<i>Trichothecenes</i>	Toxinas producidas por hongos del género <i>Fusarium</i> , <i>Myrothecium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Stachybotris</i>	Sangre, orina, tejidos	RIA ¹ . ELISA ¹ . GLC-MS ¹	Vacuna y antitoxina no disponible
Virus <i>Variola virus</i>	ADN (<i>Poxviridae</i> , <i>Orthopoxvirus</i>)	Sangre, suero, líquido vesicular, muestras cutáneas, fomites	Cultivo ³ y ME. PCR	Vacuna de uso restringido
<i>Ébola y Marburg</i>	ARN de cadena sencilla y polaridad negativa (<i>Filoviridae</i> , <i>Filovirus</i>)	Sangre, suero y muestras tisulares, muestras <i>post mortem</i>	Cultivo ³ y ME. IFI ¹ . ELISA ¹ . PCR	Tratamiento y vacunas no disponibles
<i>Arenavirus</i> causantes de FH (<i>Lassa</i> , <i>Junín</i> y otros)	ARN segmentado de cadena sencilla y polaridad negativa (<i>Arenaviridae</i> , <i>Arenavirus</i>)	Sangre, suero, lavados nasofaríngeos, líquido pleural, muestras tisulares y orina	Cultivo ³ y ME. IFD ¹ . IFI ¹ . ELISA ¹ . PCR	Ribavirina. Vacuna frente a Junín no disponible
<i>Alphavirus</i> (encefalitis)	ARN de cadena sencilla y polaridad positiva (<i>Togaviridae</i> , <i>Alphavirus</i>)	LCR, suero, biopsia cerebral	Cultivo. IFI. ELISA ¹ . PCR	Tratamiento y vacunas no disponibles
<i>Hantavirus</i>	ARN segmentado de cadena sencilla y polaridad negativa (<i>Bunyaviridae</i> , <i>Hantavirus</i>)	Aspirado y exudado nasofaríngeo, lavado broncoalveolar, aspirado traqueobronquial, sangre, plasma suero	Cultivo + IFI ¹ . ELISA. PCR	Tratamiento y vacunas no disponibles
<i>Influenza A</i> (modificado genéticamente)	ARN segmentado de cadena sencilla y polaridad negativa (<i>Orthomyxoviridae</i> , <i>Influenzavirus</i>)	Aspirado, exudado y lavado nasofaríngeo, lavado broncoalveolar, aspirado traqueobronquial, líquido pleural, biopsia pulmonar	Cultivo y ME. IFD. PCR	Amantadina, zanamivir, oseltamivir Vacuna H1/H3 anual
Hongos <i>Coccidioides immitis</i>	Hongo dimórfico. Arthroconidias en su forma micelial	Muestras respiratorias, suero, sangre	Cultivo. ID. SAT ¹ . ELISA ¹ . PCR	Anfotericina B, azoles Vacuna no disponible
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Hongo dimórfico. Macroconidias ornamentadas en su forma micelial	Muestras respiratorias, médula ósea, sangre, suero, orina	Cultivo. ID. FC Test Histoplasmina ¹ . Antígeno en orina ¹ . PCR	Anfotericina B, azoles Vacuna no disponible
Parásitos <i>Cryptosporidium parvum</i>	Protozoo intestinal	Heces, suero, muestras respiratorias	Microscopia. IFI. Detección de antígeno. PCR	Nitazoxanida Vacuna no disponible
<i>Plasmodium falciparum</i>	Protozoo hemático	Sangre, suero	Microscopia. IFI. Detección de antígeno. PCR	Quinina y derivados (mefloquina, cloroquina), artemesina y derivados Vacuna efectiva no disponible

¹No disponibles en el CNM en la actualidad.²Kit comercial sólo aplicable a muestras medioambientales (baja sensibilidad)³Se requieren instalaciones con nivel de bioseguridad 4.

IFI: inmunofluorescencia directa; IFI: inmunofluorescencia indirecta; FC: fijación de complemento; ME: microscopia electrónica; SAT: test serológico de aglutinación; RPLA: aglutinación pasiva reversa con látex; GLC-MS: cromatografía líquida de gases-espectrometría de masas; ID: inmunodifusión; SNC: sistema nervioso central.

Bibliografía

- Eitzen EM. Use of Biological Weapons. En: Frederick R, Sidell ET, Takafuj DRF, editors. Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. Washington: Department of the Army, Office of the Surgeon General. 1997. Disponible en: <http://www.nbc-med.org/SiteContent/HomePage/WhatsNew/MedAspects/contents.html>
- Tucker JB. Historical trends related to bioterrorism: an empirical analysis. *Emerg Infect Dis*. 1999;5:498-504.
- Torok TJ, Tauxe RV, Wise RP, Livengood JR, Sokolow R, Mauvais S, et al. A large community outbreak of salmonellosis caused by intentional contamination of restaurant salad bars. *JAMA*. 1997;278:389-95.
- Greene CM, Reefhuis J, Tan C, Fiore AE, Goldstein S, Beach MJ, et al. Epidemiologic investigations of bioterrorism-related anthrax, New Jersey, 2001. *Emerg Infect Dis*. 2002;8:1048-55.
- Olson KB. Aum Shinrikyo: Once and Future Threat? *Emerg Infect Dis*. 1999;5:513-6.
- Ferguson NE, Steele L, Crawford CY, Huebner NL, Fonseca JC, Bonander JC, et al. Bioterrorism web site resources for infectious disease clinicians and epidemiologists. *Clin Infect Dis*. 2003;36:1458-73.
- Byrne D. Bioterrorism: crime and opportunity. *Euro Surveill*. 2001;6:157-8.
- Unión Europea. Decisión N° 2119/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 24 de septiembre de 1998 por la que se crea una red de vigilancia epidemiológica y de control de las enfermedades transmisibles en la Comunidad. DOUE. 1998;268:1-6.
- Unión Europea. Reglamento N° 851/2004/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de abril de 2004 por el que se crea un Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades. DOUE. 2004;142:1-11.
- CDC. Biological and chemical terrorism: strategic plan for preparedness and response. *MMWR*. 2000;49:1-14.
- Schultz CH, Mothershead JL, Field M. Bioterrorism preparedness. I: The emergency department and hospital. *Emerg Med Clin North Am*. 2002;20:437-55.
- Flowers LK, Mothershead JL, Blackell TH. Bioterrorism preparedness. II: The community and emergency medical services systems. *Emerg Med Clin North Am*. 2002;20:457-76.
- Mothershead JL, Tonant K, Koenig KL. Bioterrorism preparedness. III: State and federal program and response. *Emerg Med Clin North Am*. 2002;20:457-76.
- Varkey P, Poland GA, Cockerill FR 3rd, Smith TF, Hagen PT. Confronting bioterrorism: physicians on the front line. *Mayo Clin Proc*. 2002;77:661-72.
- Meyer RF, Morse SA. Bioterrorism preparedness for the public health and medical communities. *Mayo Clin Proc*. 2002;77:619-21.
- Greenfield RA, Brown BR, Hutchins JB, Iandolo JJ, Jackson R, Slater LN, et al. Microbiological, biological, and chemical weapons of warfare and terrorism. *Am J Med Sci*. 2002;323:326-40.
- Jones J, Terndrup TE, Franz DR, Eitzen EM Jr. Future challenges in preparing for and responding to bioterrorism events. *Emerg Med Clin North Am*. 2002;20:501-24.
- Evans RG, Crutcher JM, Shadel B, Clements B, Bronze MS. Terrorism a public health perspective. *Am J Med Sci*. 2002;323:291-8.
- Fallon K, Boone D. Death certificate surveillance – New Hampshire. En: Syndromic Surveillance: Reports from a National Conference, 2003. *MMWR*. 2004;53 Suppl:236.
- Nordin JD, Goodman M, Kulldorff M, Ritzwoller D, Abrams A, Donahue J, et al. Use of modeled anthrax attacks on the mall of america to assess sensitivity of syndromic surveillance, Minnesota, 2003-2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2005;54:198.
- Nordin JD, Goodman MJ, Kulldorff M, Ritzwoller DP, Abrams AM, Kleinman K, et al. Simulated anthrax attacks and syndromic surveillance. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1394-8.
- Valencia R, Román E, García-León FJ, Guillé J. Sistemas de alerta: una prioridad en vigilancia epidemiológica. *Gaceta Sanitaria*. 2003;17:520-2.
- Gesteland PH, Gardner RM, Tsui FC, Espino JU, Rolfs RT, James BC, et al. Automated syndromic surveillance for the 2002 Winter Olympics. *J Am Med Inform Assoc*. 2003;10:547-54.
- Rand Corporation. Syndromic Surveillance. An effective tool for Detecting Bioterrorism?. Research highlights. Center for Domestic and International Health Security. [revista electrónica] 2004. [consultada en septiembre 2005]. Disponible en: <http://www.rand.org>
- UCSF-Stanford Evidence-based Practice Center. Bioterrorism Preparedness and Response: Use of information Technologies and Decision Support Systems. Evidence Report/Technology Assessment; N° 59 [revista electrónica] 2002 [consultada en septiembre 2005]. Disponible en: <http://chppcor.stanford.edu/publications/12090/>
- Kaufmann AF, Pesik NT, Meltzer MI. Syndromic surveillance in bioterrorist attacks. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1487-8.
- Eiros Bouza JM, Bachiller Luque MR, Ortiz de Lejarazu R. Bases para el manejo médico de enfermedades bacterianas potencialmente implicadas en bioterrorismo: ántrax, peste, tularemia y brucelosis. *An Med Interna (Madrid)*. 2003;20:540-7.
- Madeley CR. Diagnosing smallpox in possible bioterrorist attack. *Lancet*. 2003;361:97-8.
- Bossi P, Van Loock F, Tegnell A, Gouvras G. Bichat clinical guidelines for bioterrorist agents. *Euro Surveill*. 2004;9.
- Cockerill FR 3rd, Smith TF. Response of the clinical microbiology laboratory to emerging (new) and reemerging infectious diseases. *J Clin Microbiol*. 2004;42:2359-65.
- World Health Organization. Public health response to biological and chemical weapons. WHO guidance. Segunda Edición 2004. Disponible en: <http://www.who.int/csr/delibepidemics/biochemguide/en>
- Borio L, Inglesby T, Peters CJ, Schmaljohn AL, Hughes JM, Jahrling PB, et al. Hemorrhagic fever viruses as biological weapons: medical and public health management. *JAMA*. 2002 287:2391-405.
- Sewell DL. Laboratory safety practices associated with potential agents of biocrime or bioterrorism. *J Clin Microbiol*. 2003;41:2801-9.
- Peruski LF, Peruski AH. Rapid diagnostic assays in the genomic biology era: detection and identification of infectious disease and biological weapons agents. *Biotechniques*. 2003;35:840-6.
- Ivnitski D, O'Neil DJ, Gattuso A, Schlicht R, Calidonna M, Fisher R. Nucleic acid approaches for detection and identification of biological warfare and infectious disease agents. *Biotechniques*. 2003;35:862-9.
- Tenorio A, Anda P, Rodríguez Tudela JL. Guerra Biológica. En: Farreras, Rozman, editors. Medicina Interna 15th ed. 2005. p. 2581-9.
- Burnett JC, Henchal EA, Schmaljohn AL, Bavari S. The evolving field of biodefence: therapeutic developments and diagnostics. *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4:281-97.
- Bronze MS, Huycke MM, Machado LJ, Voskuhl GW, Greenfield RA. Viral agents as biological weapons and agents of bioterrorism. *Am J Med Sci*. 2002;323:316-25.
- Greenfield RA, Drevets DA, Machado LJ, Voskuhl GW, Cornea P, Bronze MS. Bacterial pathogens as biological weapons and agents of bioterrorism. *Am J Med Sci*. 2002;323:299-315.
- Wannemacher RW, Wiener SL. Trichothecenes mycotoxins. En: Sidell FR, Takafuj ET, Franz DR, editors. Medical aspects of chemical and biological warfare. Washington, Department of the Army, Office of the Surgeon General, 1997. Disponible en: <http://www.nbc-med.org/SiteContent/HomePage/WhatsNew/MedAspects/contents.html>