

Bacillus anthracis: implicación en bioterrorismo

E. Aguilar Huerta^a, C. Gimeno Fernández^b y C. Viana Alonso^c

^aMédico de Familia. Centro de Salud, Yunquera de Henares. Guadalajara. ^bFacultativo Especialista en Microbiología. Sección de Microbiología. Hospital General Universitario. Guadalajara. ^cDiplomada Universitaria en Enfermería. Centro de Salud Yunquera de Henares. Guadalajara.

INTRODUCCIÓN

El bioterrorismo se define como el uso de agentes biológicos con la finalidad de producir enfermedad y/o muerte en hombres, animales o plantas¹.

Los agentes biológicos son microorganismos y sus toxinas, animales o plantas, y dentro de ellos, los utilizados en bioterrorismo presentan unas características como son la escasa dificultad en su producción, manipulación y almacenaje, su gran estabilidad, su fácil diseminación y la capacidad de producir una alta morbilidad¹.

Los terroristas que utilizan este tipo de armas se aprovechan de la inexistencia de sensores eficaces para su detección, de la dificultad de predecir qué población va ser afectada, de los limitados medios sanitarios de urgencia-emergencia de los que disponen los sistemas sanitarios y de que frente a muchos de estos agentes actualmente no existen tratamientos efectivos, bien porque no son conocidos, bien porque se emplean agentes biológicos manipulados genéticamente que son resistentes a los antimicrobianos habitualmente eficaces^{1,2}.

Las armas biológicas pueden presentar mayor capacidad destructiva que las armas químicas y tanto o más que las armas nucleares; así, por ejemplo, 1 Kg de esporas de *Bacillus anthracis* puede producir la muerte a tantas personas como en su día lo hizo la bomba atómica en Hiroshima².

La cara más perversa de la ciencia es el bioterrorismo; desde las civilizaciones antiguas hasta los recientes inicios del siglo XXI, motivados por diferentes razones (políticas, religiosas, etc.) y siempre con el mismo fin (someter a la población) se han utilizado diferentes agentes biológicos, reflejando en cada etapa la adquisición de nuevos conocimientos. Por diversos documentos hay constancia de que griegos, romanos y persas envenenaban el agua de sus enemigos con animales muertos en descomposición². En la Edad Media, en Kaffa, ciudad portuaria de Ucrania, los guerreros tártaros lanzaban con catapultas a miembros de su población muertos por epidemias contra las ciudades

que querían atacar, debilitando así a la población. En el siglo XVIII, en América, los británicos provocaron epidemias de viruela en los indios nativos utilizando pañuelos contaminados por la enfermedad, procedentes de sus soldados. Y ya en el siglo XX, se sospecha que, en la Primera Guerra Mundial, Alemania pudo provocar cólera y peste en humanos, y antrax y muermo en animales³. En la segunda mitad del siglo XX (entre 1960 y 1999) se sabe que se han cometido al menos 121 actos terroristas utilizando agentes biológicos, entre ellos, el que tuvo lugar en 1984 en la ciudad de Texas, en el que la secta Rajneeshee utilizó *Salmonella typhimurium*, y el provocado en 1995 en Japón por la secta religiosa Aum Shinrikyo que utilizó *Bacillus anthracis*. Esta misma bacteria ha vuelto a ser utilizada en los inicios de este nuevo siglo (septiembre de 2001) provocando muerte en la población de EE.UU. y un estado de alarma social en todo el mundo⁴.

Aunque en 1925 se firma el Protocolo de Ginebra, por el que se prohíbe el uso de armas nucleares, químicas y biológicas, no se limita ni su desarrollo ni su producción³ y actualmente a nivel oficial se reconoce que 17 países en el mundo cuentan con armamento biológico, entre ellos Rusia, EE.UU., Japón, Irak, India, etc.²

PATÓGENOS DE INTERÉS EN BIOTERRORISMO

Los Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) clasifican los posibles agentes biológicos implicados en bioterrorismo en tres categorías en función de su facilidad de transmisión y poder letal (tabla 1)^{5,6}.

—Categoría A: incluye organismos de fácil diseminación o que se transmiten de persona a persona, con gran potencial para producir muerte e impacto en la salud pública, causando pánico y desequilibrio social, y que requieren la intervención especial de autoridades sanitarias públicas.

—Categoría B: incluye aquellos organismos de moderada diseminación, que causan una mortalidad baja y una morbilidad moderada, requiriendo esfuerzos específicos en el diagnóstico y aumento de la vigilancia de la enfermedad.

—Categoría C: incluye organismos de fácil disposición, producción y diseminación, con elevado potencial para provocar una alta mortalidad y morbilidad, además de tener gran impacto social.

Correspondencia: C. Gimeno Fernández
Sección de Microbiología.
Hospital General Universitario. Guadalajara.
C/ Donantes de sangre, s/n.
19002 Guadalajara.

Tabla 1. clasificación de los agentes biológicos empleados en bioterrorismo según los CDC

Categoría	Patógeno
Categoría A	<i>Bacillus anthracis</i> (antrax =carbunco) <i>Costridium botulinum</i> (botulismo) <i>Yersinia pestis</i> (peste) <i>Variola major</i> (viruela) <i>Francisella tularensis</i> (tularemia) Fiebre hemorrágica vírica
Categoría B	<i>Coxiella burnetii</i> (fiebre Q) <i>Brucella species</i> (brucelosis) <i>Burkholderia mallei</i> (muermo)
Categoría C	Virus Nipah Adenovirus Hantavirus Virus productores de fiebre hemorrágica o transmitidos por garrapatas Virus productores de encefalitis y transmitidos por garrapatas Fiebre amarilla Tuberculosis multirresistente

*Centers for Diseases Control

En bioterrorismo se pueden utilizar agentes que únicamente afecten a la población expuesta, como es el caso de la toxina botulínica y de *Bacillus anthracis*⁵, o, por el contrario, sean muy contagioso y se diseminen a población susceptible no afectada directamente por el acto terrorista inicial, como es el caso del virus de la viruela.

La extensión del efecto está estrechamente relacionado con el medio de diseminación y la vía de contagio utilizados. La vía más habitualmente empleada es la inhalatoria, utilizando el agente biológico en forma de aerosol, ya que es barata, fácil y altamente eficaz. Los resultados dependerán de las condiciones atmosféricas y de las propiedades del aerosol utilizado. Cuando la vía de contagio elegida es la digestiva se suelen emplear alimentos o aguas contaminadas con el agente biológico. Menos frecuentemente se recurre a la vía cutánea mediante la inoculación directa del agente infeccioso.

BACILLUS ANTHRACIS Y BIOTERRORISMO

El término "carbunco" deriva del griego *anthrakis*, que corresponde al término anglosajón *anthrax*. Ambos significan "antracita" (derivado del carbón), por la lesión cutánea que aparece en esta enfermedad: una costra negra. El agente etiológico es *Bacillus anthracis*⁷.

Se trata de una enfermedad con amplia distribución geográfica, sobre todo en países con escasos programas de salud pública como los de sur y centro de América, sur y este de Europa, Asia, África, Caribe y Oriente Medio.

Es una zoonosis que afecta a herbívoros superiores, salvajes y domésticos. En el hombre se considera fundamentalmente una enfermedad profesional relacionada con la manipulación directa de animales y sus productos, afectando a profesionales como ganaderos, matarifes, esquiladores, veterinarios, carniceros, etc.^{7,8}.

De esta enfermedad ya se habla en el libro del Génesis cuando describe la quinta y sexta plaga del Éxodo⁹. Entre los siglos XVI y XVIII tiene gran repercusión en la economía agrícola y es en 1850 cuando Rayer describe el germen en animales muertos. Robert Koch en 1867 asocia el *Bacillus anthracis* con la enfermedad de carbunco y describe la importancia de sus esporas. En 1881 Louis Pasteur elaboró la primera vacuna con bacterias atenuadas atoxigénicas, y posteriormente en 1939 Sterne elaboró una vacuna basada en cepas atenuadas no encapsuladas, que es la que en la actualidad se utiliza en veterinaria¹⁰. Durante la segunda mitad del siglo XIX, en Inglaterra se describe por primera vez un cuadro de carbunco inhalado que afectaba a esquiladores y manipuladores de lana de cabra y pelo de alpaca contaminados con esporas de esta bacteria. A partir de la segunda mitad del siglo XX se empieza a emplear este germen en el ámbito militar, considerándose como un arma biológica potencial (según la Organización Mundial de la Salud, 50 Kg de esporas de *Bacillus anthracis* diseminadas sobre una línea de 2 Km en una población de 500.000 habitantes es capaz de producir en tres días 125.000 infecciones y 95.000 muertes)¹¹.

La incidencia de carbunco espontáneo en humanos (no relacionado con actos terroristas) está poco establecida. En 1958 se estimó que hubo entre 20.000 y 100.000 casos por año en todo el mundo. La última epidemia de carbunco espontáneo se desarrolló entre 1978 y 1980 en Zimbabwe con 100.000 casos, 18 de ellos diseminados por vía inhalatoria. En relación con su uso militar, en 1979 en Rusia (Sverdlovsk), se produjo una epidemia de carbunco inhalado tras la manipulación del bacilo en una instalación militar. En EE.UU. la incidencia ha ido disminuyendo notablemente, de manera que en la primera década del siglo XX hubo 127 casos cutáneos frente a sólo un caso declarado en la última década del mismo siglo. En cuanto a la incidencia de carbunco inhalado, se reconoce que es muy baja (18 casos declarados en todo el siglo pasado), si bien debido al último atentado terrorista ocurrido en septiembre de 2001 en EE.UU. el panorama puede estar cambiando^{8,11}.

CARACTERÍSTICAS DEL GERMEN

Bacillus anthracis es un bacilo grampositivo, largo (1-1,5 µm x 3-10 µm) (fig. 1), de rápido crecimiento en medios de cultivo que contienen sangre de oveja, aerobio y anaerobio facultativo, no hemolítico, inmóvil y nativamente sensible a penicilina (fig. 2). Se trata de una bacteria formadora de esporas, que son formas de resistencia, de aproximadamente 1 µm de tamaño, que no se dividen ni tienen metabolismo propio. La esporulación tiene lugar cuando la bacteria se encuentra en condiciones ambientales desfavorables, de manera que en esta forma puede sobrevivir en el suelo durante décadas. En dicha forma es capaz de resistir la desecación, el calor, la luz ultravioleta, las radiaciones gamma y muchos desinfectantes. Se necesitan 10 minutos en ebullición y tres horas a temperatura de 140 °C con calor seco para la destrucción de sus esporas.

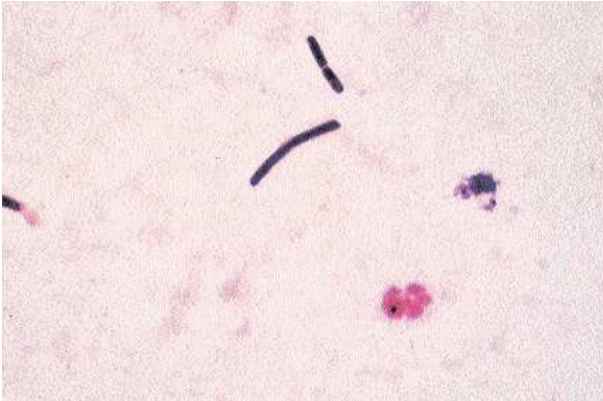


Figura 1. *Bacillus anthracis*. Tinción de Gram (X100).

La germinación de las mismas hacia formas vegetativas bacterianas se produce en ambientes ricos en glucosa, aminoácidos y nucleósidos (por ejemplo, sangre y tejidos vivos)¹.

En el carbunco espontáneo la vía de contagio más frecuente es la cutánea, a través de cortes o abrasión de la piel (más del 95% de todos los casos). Menos frecuentemente se contagia por vía gastrointestinal ingiriendo productos contaminados o por vía inhalatoria; por ejemplo, en manipuladores de productos animales contaminados como pelo o lana. Se calcula que para producirse un cuadro clínico de carbunco pulmonar es necesario inhalar una alta concentración de esporas (entre 2.500 y 55.000). No se ha descrito nunca el contagio persona a persona^{1,8}.

PATOGÉNESIS

Bacillus anthracis expresa tres factores de virulencia: una cápsula y dos exotoxinas (toxina letal y toxina de edema). Estos factores están codificados por dos plásmidos: PXO2 (*capsule-bearing plasmid*) y PXO1 (*toxina-bearing plasmid*) respectivamente. Ambos plásmidos y sus productos son necesarios para que la cepa sea virulenta, de manera que la ausencia de uno de ellos da lugar a cepas atenuadas⁹.

La cápsula está constituida por un polipéptido del ácido D- glutámico que le confiere actividad antifagocitaria y propiedad antigénica (formación de anticuerpos sin carácter protector).

Las dos toxinas secretadas son responsables del cuadro de edema y necrosis tisular y ambas inhiben la respuesta inmune contra la infección^{7,11}.

CICLO DE INFECCIÓN

El ciclo de infección se inicia con la penetración de las esporas a través de la piel o mucosas. En el lugar de inoculación se produce un bajo nivel de germinación provocando edema y necrosis local, que a nivel cutáneo se manifiesta por la aparición de una lesión necrótica cubierta por una costra negra y rodeada de una zona de edema. En este momento las endosporas son fagocitadas por macrófagos donde germinan en mayor proporción dando origen a for-



Figura 2. *Bacillus anthracis*. Cultivo en medio Columbia Agar sangre (arriba) y estudio de susceptibilidad a la penicilina (abajo).

mas bacterianas vegetativas. Estos macrófagos migran hacia los ganglios linfáticos, y allí los bacilos se multiplican y liberan los factores de virulencia desencadenando una linfadenitis hemorrágica regional. Desde allí, los bacilos se pueden diseminar vía hematogena y vía linfática, provocando un cuadro de sepsis. En algunas ocasiones, y por extensión desde sangre o linfa, pueden afectarse las meninges⁷.

En el caso de que la mucosa afectada sea la alveolar, se observa una linfadenitis hemorrágica peribronquial, con el consiguiente bloqueo del drenaje linfático, y posteriormente edema pulmonar y muerte del paciente. El desenlace fatal de la enfermedad suele suceder entre el primer y séptimo día postexposición^{7,8}.

CLÍNICA

Aunque el carbunco cutáneo es la forma más frecuente de presentación de esta enfermedad, nos referiremos exclusivamente al carbunco pulmonar.

El carbunco pulmonar es una forma rara de presentación fuera del contexto que nos ocupa: el bioterrorismo. En humanos se ha demostrado que la dosis letal de esporas necesaria para causar la muerte al 50% de las personas expuestas (LD50) es de 2.500 a 55.000 esporas⁸.

El período medio de incubación de la forma pulmonar es de aproximadamente 10 días (de uno a 43 días). Sin embargo, los síntomas pueden aparecer 6 semanas más tarde a la exposición, puesto que las esporas pueden permanecer en el pulmón hasta dos meses sin germinar; eso sí, cuanto mayor sea la inoculación más temprano se iniciarán los síntomas⁸.

Podemos describir dos fases: la primera se caracteriza por la presencia de tos no productiva, fiebre, mialgias, malestar general y dolor abdominal, similar a un cuadro infeccioso del tracto respiratorio superior.

La segunda fase se caracteriza por un deterioro rápido y progresivo del paciente (en las primeras 72 horas), con evolución hacia una neumonitis hemorrágica necrotizante y una mediastinitis necrotizante con *distress* respiratorio. Es importante tener en cuenta que nunca se produce un cuadro de infección pulmonar. Radiológicamente podemos objetivar aumento del mediastino y derrame pleural. A partir del foco pulmonar puede, secundariamente, producirse una diseminación hematógena con afectación gastrointestinal y aptomenínea (50% de los casos) y muerte fulminante, hasta en el 89%-100% de los casos, incluso habiéndose instaurado tratamiento antibiótico correcto^{1,7,8}.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se debe basar en la existencia de una alta sospecha ante un cuadro clínico compatible asociado a una historia de exposición previa¹⁰. Se notificará a las autoridades sanitarias competentes y se iniciará el estudio para confirmar la enfermedad.

Se realizará una historia clínica detallada y pruebas complementarias, como radiografía de tórax, donde podremos observar aumento de mediastino y derrame pleural.

El estudio microbiológico se deberá realizar en laboratorios con medidas de seguridad como cabinas de nivel II y que cuenten con personal adiestrado. El diagnóstico microbiológico se basa en la visualización de la bacteria mediante tinciones y su aislamiento de la muestra clínica. La tinción Gram proporciona un diagnóstico de presunción rápido (en una hora), siendo el cultivo e identificación bacteriana lo que nos proporciona el diagnóstico definitivo (en aproximadamente 24-36 horas). Las muestras clínicas recomendadas para el aislamiento de la bacteria, en caso de carbunco por inhalación, son el frotis nasal y el hemocultivo. Otras muestras menos rentables son el frotis faringo-amigdalal, el líquido pleural y el esputo⁸.

Los estudios serológicos proporcionan un diagnóstico tardío, por lo que son poco útiles para el diagnóstico de infección aguda y prácticamente su aplicabilidad es a nivel epidemiológico. Además hay que tener en cuenta que en aquellos casos que han sido tratados no se detectan anticuerpos. La sensibilidad es variable (26%-95%) dependiendo de la forma clínica y el antígeno utilizado⁷. Como técnica de cribado se emplea ensayo de inmunoenlaces (EIA), mediante los cuales se establece el diagnóstico cuando se demuestra que se ha producido una seroconversión con un aumento de cuatro veces el título de anti-

cuerpos inicial. Como técnica de confirmación se emplea el *blotting*. También se utilizan técnicas moleculares en centros de referencia (PCR), prueba cutánea de antraxina y detección de toxinas en sangre, aunque son técnicas poco estandarizadas.

TRATAMIENTO

Los tratamientos antimicrobianos con los que se cuenta en la actualidad son activos frente a formas bacterianas vegetativas, pero no contra las esporas.

Cuando se sospeche un acto de bioterrorismo se deberá administrar, lo antes posible en el área afectada, tratamiento antibiótico a toda persona con fiebre o sintomatología compatible con carbunco. En estos casos se tendrá en cuenta la posible manipulación genética de la cepa empleada, por lo que en lugar de usar inicialmente penicilina o tetraciclina (tratamiento clásico recomendado por la *Food and Drug Administration* [FDA] en cuadros de carbunco espontáneo) se administrará como antibiótico de primera elección una fluoroquinolona, como ciprofloxacino u ofloxacino. Una vez demostrada la sensibilidad a los antibióticos clásicos, se utilizará el antimicrobiano disponible, más eficaz, más eficiente y menos tóxico. La vía de administración será la oral en personas asintomáticas, y la vía intravenosa en aquellos con síntomas generales. La duración del tratamiento será de 60 días en todos los casos y formas clínicas, ya que las esporas pueden permanecer en pulmón hasta dos meses antes de germinar. En el caso de poderse administrar al menos tres dosis de vacuna frente a *Bacillus anthracis* el tratamiento se podrá suspender en 30 o 45 días. Además del tratamiento antibiótico será necesario realizar un control sintomático⁷.

La profilaxis postexposición se administrará al personal de laboratorio y a todas las personas que estén en áreas con alta concentración ambiental de esporas.

INMUNIZACIÓN. VACUNACIÓN

La única vacuna aprobada por la FAD, desde 1970, para su uso en EE.UU. es la denominada *Anthrax Vaccine Absorbed* (AVA). Fue sintetizada por Bio-Port (1957-1960 en Michigan) y se trata de una vacuna acelular procedente del filtrado de la cepa V770-NP1-R, no encapsulada pero toxigénica, precipitado con alum (sulfato potásico de aluminio). Su administración es por vía subcutánea. La vacunación primaria se completa con la administración de dos dosis en la segunda y cuarta semana posteriores a la dosis administrada inicialmente. Además, el laboratorio farmacéutico recomienda dosis de recuerdo a los 6, 12 y 18 meses, para mantener la inmunidad y un recuerdo anual¹².

Aunque no está definido el título de anticuerpos a partir del cual existe protección frente a la enfermedad, se estima que la eficacia de la vacuna es de un 83% después de la primera dosis, del 91% después de la segunda y se observa seroconversión en el 95% de los casos después de la tercera dosis. Tampoco se conoce con exactitud la duración de la eficacia¹².

Los efectos adversos son raros y normalmente corresponden a reacciones locales leves-moderadas en un 25%, severas en el 1% y reacciones sistémicas en menos de un 0,06% de los casos. De forma excepcional se han publicado casos de anafilaxia, celulitis o neumonía.

Se debe tener precaución en su utilización ante un paciente con historia previa de carbunco, ya que se observan mayor número de efectos secundarios en el embarazo o la lactancia y está completamente contraindicada en pacientes con enfermedad severa o que hayan sufrido reacción anafiláctica frente a AVA.

En caso de bioterrorismo hay que tener en cuenta que no es fácil determinar la población que va a ser afectada y que el mayor riesgo de contraer la infección se produce durante la aerosolización primaria, es decir, a las 24 horas, cuando el aerosol se dispersa totalmente. Después las esporas se depositan en el suelo y superficies; la aerosolización secundaria (resuspensión de las esporas) y contagio a partir de ella es raro. Por todo ello la vacunación sólo se recomienda en personal militar y en grupos de alto riesgo¹².

MEDIDAS DE CONTROL RECOMENDADAS CUANDO EXISTE UN CASO DE SOSPECHA DE CARBUNCO PRODUCIDO POR INHALACIÓN

—Notificación del caso a las autoridades sanitarias y al laboratorio de Microbiología.

—Recomendación de medidas básicas de aislamiento a pesar de no existir el contagio persona a persona.

—No se precisan filtros de alta eficacia, máscaras u otras protecciones para aerosoles.

—No está indicada la vacunación ni la profilaxis anti-biótica en los contactos con el paciente.

—En caso de muerte, incinerar el cadáver, y, si se realiza autopsia, autoclavar o incinerar todo el material empleado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Klietmann WF, Ruoff K.L. Bioterrorism: Implications for the clinical Microbiologist. *Clin Microb Rev* 2001;14:364-81.
2. Siegrist DW. The Threat of Biological Attack: Why Concern Now? *Emerg Infect Dis*, 1999;5:505-8.
3. Christopher GW, Cieslak TJ, Paulin JA, Eitzen EM. Biological warfare: a histological perspective *JAMA* 1997;278:412-7.
4. Tucker JB. Historical Trends related to Bioterrorism: an empirical analysis. *Emerg Infect Dis* 1999;5:498-504.
5. Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Basic Laboratory protocols. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (4th ed). Washington D.C.: U.S. Department of Health and Human Services; 1999.
6. Kortepeter MG, Parker GW. Potential biological weapons threats. *Emerg Infect Dis* 1999;34:815-26.
7. Dixon TC, Meselson M, Guillemin J, Hanna PG. Anthrax. *New Engl Med* 1999;34:815-26.
8. Inglesby TW, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, Friedlander AM, et al. Anthrax as a Biological Weapon. *JAMA* 1999;281:1735-45.
9. Exodus 9: 1-12.
10. Cieslak TJ, Eitzen EM. Clinical and Epidemiologic Principles of Anthrax. *Emerg Infect Dis* 1999;5:552-5.
11. Friedlander A. Anthrax. En: Zajtchuk R, Bellamy RF, editores. *Textbook of Military Medicine: Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare*. Washington D.C: Office of the Surgeon General, U.S. Dept of the Arm; 1997;467-78.
12. Centers for Diseases Control and Prevention. Use of Anthrax Vaccine in United States: Recommendations of the Advisory Committee of Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2000;49 (N0.RR-15):1-20.