

Agresiones a través del aire

MANUEL DOMÍNGUEZ CARMONA

Académico de Número

MANUEL DOMÍNGUEZ DE LA CALLE

Farmacéutico

INTRODUCCIÓN

El origen de la contaminación de la atmósfera se debe a causas antropogénicas debidas al egoísmo humano, que pretende obtener beneficios y bienestar aunque sea a costa de alterar un recurso imprescindible para la vida en la Tierra. Pero además el hombre contamina deliberadamente el aire con agresivos químicos y biológicos para provocar enfermedad y muerte de los que considera sus enemigos. Uno de estos agresivos, desgraciadamente de actualidad, es de lo que voy a hablar antes Vds., pero antes voy a presentarles unos antecedentes de este problema:

PASADO. El carbunco es una enzootia de ovejas, cabras, vacas y menos de cerdos y équidos producida por el *Bacillus anthracis*. En inglés se llama a la enfermedad “anthrax”, palabra que como la española carbunco, derivan carbón en griego. Anthrax en español designa a una piodermatitis forunculosa). Al parecer las V y VI plagas de Egipto que describe el capítulo 9 del Éxodo fueron de carbunco. Igualmente debió tratarse de carbunco la peste del ganado lanar, descrita por Virgilio (siglo I) en la III Geórgica: «cuando vieres desviarse alguna de tus ovejas de las demás buscando la sombra, se retrasa al seguir al rebaño, se tiende mientras están paciando las demás, ataja al punto el daño».

La enfermedad está producida por el *Bacillus anthracis* descubierto por Koch en 1876. Es una bacteria inmóvil, gram-positiva, aerobia o anaerobia facultativa de 3 a 8 micras de largo por 1 a 1, 2 de ancho agrupadas en estrepto como una caña de bambú. Su cubierta tiene

un polisacárido de galactosa al que se unen lectinas, lo que permite una aglutinación con antiseros específicos. Los bacilos *cereus*, *thuringiensis*, *mycoides* pueden dar reacción cruzada pero su tratamiento con tripsina, mutanolisina, subtilisina o con 8M-urea reduce o elimina la aglutinación cruzada con el *B. anthracis*.

En medios con bicarbonato y anhídrido carbónico produce cápsula que rodea a uno, dos y hasta tres bacilos. La cápsula es un polímero de D-glutámico que le hace resistente a la fagocitosis y contribuye a su resistencia a la lisis por proteínas catiónicas del suero; la formación de la cápsula, depende de un plásmido de 110 kb, de Mr 1×10^6 llamado *pxo1*, aunque hay cepas como las del Pasteur, que tienen otro, denominado *pXO2*, con Mr de 60×10^6 . La curación del *pXO2* por cultivo durante 3 días en presencia de 1% de novobiocina produce colonias rugosas debidas a la pérdida de la cápsula, al igual que ocurre con las variantes espontáneas rugosas de la cepa Pasteur 6602. Las variantes espontáneas rugosas conservan el *pXO2* y pueden revertir a formas capsuladas, cosa que no pueden hacer las cepas *pXO2*. La cápsula del *B. Anthracis* protege al microorganismo de la fagocitosis; es antigénica pero no es protectora.

Crece entre 15 y 42° (óptimo 32°C), en caldo y en agua de peptona. Las colonias son redondeas, de borde sinuoso con la superficie seca. En agar-sangre de cordero forma grandes colonias no hemolíticas con aspecto de azúcar glas, formada por microorganismos en cadena, altamente adherentes entre sí, en cuyos contornos se observan las típicas cabelleras de león. Tiene una ligera acción proteolítica que hace que en cultivos en medios semisólidos, sembrados por picadura, crezca como un abeto invertido. El microorganismo sintetiza una pequeña cantidad de lecitinasa demostrable en medios con yema de huevo (el *B. cereus* mucha). La bacteridia fermenta débilmente, sin formar gas a la glucosa, maltosa y levulosa, sin atacar a la galactosa, a la lactosa y al manitol.

Hay seis serotipos diferentes y muchos genotipos. Jackson y cols. (1997) encontraron por PCR de 198 bacilos una región de ADN que presenta cinco polimorfismos caracterizados por la presencia de dos a seis copias del tándem 5'-CAATATCAACAA-3' de 12 pb, situadas en una secuencia mayor que contiene un open reading completo que codifica

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

una proteína de 30-kDa igual en todas las cepas salvo en el número de copias (2 a 6) de la secuencia de 4-aminoácidos QYQQ. Otro polimorfismo consiste en que una secuencia de ADN esta repetida una o más veces lo que determina que la proteína pueda tener un número diferente del tándem VNTR, que por cierto también tienen los bacilos anthrax-like

HÁBITAT Los tejidos y especialmente la sangre, de los animales con carbunco, contienen una enorme cantidad de *Bacillus anthracis*, los cuales salen al exterior por las hemorragias que sufren y además por la orina, la saliva, vómitos, heces a menudo con melenas, sanguinolentas y hasta por la leche, si se sigue produciendo. La sangre que sale por los orificios externos contiene varios millones de microorganismos por mililitro. En algunos países musulmanes, como en Marruecos, dado que el Corán prohíbe consumir cadáveres de animales, los sangran antes de comerlos, cayendo la sangre a la tierra a la que siembran con millones de microorganismos. También se contamina la tierra con los cadáveres de animales abandonados en su superficie o enterrados someramente o con fertilizantes, a base de huesos u otros productos procedentes de animales carbuncosos que puede contener no la bacteridia sino esporas, a menudo importados.

Los bacilos pueden quedar inhibidos por la competición y efecto antibiótico de la flora telúrica y la de la putrefacción, especialmente de las pseudomonas favoreciendo, que el suelo se libere del *B. anthracis*, si actúan antes de la esporulación. El hábitat de la spora del *B. Anthracis* es la tierra; el medio telúrico es el reservorio y en la mayoría de los casos la fuente de infección. La bacteria se encuentra en todo tipo de suelos, con tal de que su pH sea superior a 6 como los calcáreos; un pH ácido elimina pronto a la bacteria. El *B. anthracis* prefiere una temperatura de 28-30°C, en invierno con temperaturas inferiores a los 10°C la bacteridia puede persistir varias semanas, (Minett 1950). También requiere alta humedad relativa y oxígeno. Las esporas sobreviven como mínimo 35 años, incluso en condiciones climáticas adversas no perviven indefinidamente, como se creía. Pasteur, Roux y Chamberland los encontraron en un terreno en el que se había enterrado un animal que había muerto hacía 17 años. Merchant y cols. (1961) encontraron

animales enfermos al cabo de 25 años de haber muerto los casos originarios. Graham (1941), Stein (1955) y Sneath (1962) vieron que las esporas resistían entre 12 y 41 años en escobillones, algodón, papel de envolver, etc. mantenidos en condiciones invariables. Wilson y cols. (1964) observaron la pervivencia de la espora en tierra seca guardada en una botella durante 60 años. Se han aislado esporas de huesos encontrados en excavaciones arqueológicas en el Parque Nacional Kruger de Sudáfrica, que tenían al menos 200 años de antigüedad.

La presencia de esporas en el suelo forma un foco enzoótico, que perpetúa la infección en los animales que allí pastan. Si estos lugares de pasto son poco permeables como los de origen glacial-calcáreo, ricos en materia orgánica y húmedos se concentran gran cantidad de esporas dando lugar a lo que se conoce como "campo malditos", cuya existencia señaló Pasteur en la región francesa de la Beaucé y demostró como se formaban, regando tierra con orina y sangre de animales afectados. Los campos malditos contagiaban a la mayoría de los animales que allí pastaban; además, hay áreas que sin ser "malditas" originan abundantes casos esporádicos, como en el valle inferior del Mississippi, pero en general se puede presentar, en cualquier sitio, incluso en las regiones áridas y semiáridas de Africa, Asia y Sudamérica. En la primera mitad del siglo XX la mayoría de los casos de carbunco en Canadá se produjeron en Ontario y en Quebec a menudo asociados con pastos contaminados con efluentes de las industrias de cuero que usaban cuero importado. La desinfección desde 1952, de estos materiales redujo la incidencia. A partir de 1962, los brotes en el ganado se dieron casi exclusivamente en las praderas de oeste; entre 1962 y 1993, se produjeron nueve epizootias en bisontes que mataron al menos a 1.309 animales en su mayoría toros sexualmente maduros, diferencia sexual que se atribuyó a la sequedad del verano precedida de una primavera húmeda y al estrés causado por el frío, aunque es más verosímil que los toros pastaban más que las hembras, en zonas contaminadas. En Rusia a comienzos del siglo XX se producían anualmente unos cuatro millones de casos en animales de uso agrícola contagiados en más de 10.000 focos. La zoonosis afecta a los animales de las reservas y parques de Suráfrica afectando sobre todo a varias especies de gamos. Hacia 1995 se produjeron entre el 26 de enero y el 26 de marzo (verano) en un área en la parte norte del centro de Victoria (Australia) una

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

epizootia que afectó a 202 bóvidos y a cuatro ovejas, en 83 granjas de una zona en la que no había habido casos desde 1914, aunque sí había habido casos entre 1880 a 1890. La cuarentena, la restricción de movimientos de los animales, incineración de sus cadáveres y vacunación resolvieron la situación.

Son hábitats peligrosos los arroyos, las balsas de aguas efímeras que llegan a secarse, los deltas de ríos como el Ródano, el Danubio, el Ganges o los oued marroquíes, en cuyos lechos se abandonan los cadáveres de los animales que contaminan la hierba de los alrededores, cuando en la estación lluviosa, el río o el oued se desbordan, extendiendo la contaminación. La lluvia arrastra las esporas hacia lugares bajos, concentrándolos. El agua superficial se contamina al pasar por el terreno. Jones (1963) encuentra contaminadas muchas aguas superficiales de EE.UU. En los suelos anegados en los que el agua ha estado suficiente tiempo para desvitalizar o matar las plantas, suele ser difícil aislar el *B. anthracis* debido a la presencia de *B. cereus* móvil y acapsulado y de otros muchos microorganismos semejantes.

Es posible el transporte a distancia de las esporas por el viento, por la lluvia, por los animales carroñeros y por fertilizantes elaborados con huesos de animales. En los focos enzoóticos se pueden encontrar diversas cepas de *anthracis* cuyo ADN tenía distinto número del tandem VNTR demostrable por PCR así como *B. anthracis*-like. A mi modo de ver esto implica que los bacilos se reproducen mucho en esos suelos o lo que es más probable que la enzootia sea antigua, permitiendo que el terreno se haya contaminado con varias “cosechas” de esporas.

La putrefacción abre los cadáveres, proporcionando aerobiosis necesaria para la esporulación. Los cadáveres abandonados superficialmente, o enterrados a poca profundidad los bacilos esporulan e incluso pueden hacerlo los de los cadáveres enterrados profundamente pues son llevados a la superficie por el laboreo, por las lombrices de tierra, por larvas de insectos o por las hormigas. Si la temperatura es inferior a los 20°C, el bacilo tarda en esporular, pero si la temperatura supera los 28°C lo hace pronto. En el suelo la espora puede germinar si las condiciones son favorables, al hacerlo se expone a las agresiones del

ambiente. En los climas cálidos y secos, la espora tiene poca tendencia a germinar.

ESPORULACIÓN.

El *Bacillus anthracis* produce endosporos que son estructuras esféricas u ovoides (en algunas especies son cilíndricos) formando con la bacteria un esporangio. Las esporas son muy refringentes; requieren que se intensifiquen con mordientes, los colorantes utilizados, pero lograda la tinción, la espora se hace ácido-alcohol resistente. La espora del anthracis, como la de los *Bacillus* es central, y no deforma a la bacteria.

Para que se produzca la esporulación, se requiere que mantengan buena viabilidad, (la esporulación no se debe al acúmulo de sustancias tóxicas) y aerobiosis. Es imprescindible el agotamiento de alguno o de varios nutrientes hidrocarbonados, lípidos o el NPT y el NDP, causado por el nucleótido tetrafosforilado (ppGpp) producido durante el crecimiento. Se puede provocar la esporulación introduciendo microorganismos llegados a la mitad de la fase exponencial, lavados (para eliminar cualquier tóxico externo), y llevados a SS. o a un medio pobre en nutrientes, lo cual excluye la hipótesis de que la esporulación se debería a catabolitos producidos por la utilización de substratos que al comienzo de la fase exponencial la bacteria no utilizaba pero su eliminación por lavado de la bacteria no impide la esporulación. En consecuencia se activa un factor latente, o se inhibe un factor bloqueante de los genes de la esporulación que estaban sin expresarse. Si se adiciona el nutriente limitante antes de que la bacteria alcance la fase estacionaria, se puede retrasar o incluso se impide la esporulación, hasta que se vuelva a agotar dicho nutriente. La presencia del nutriente a partir de la fase IV la esporulación es irreversible. La esporulación está regulado en el tiempo por un esporulón formado por una serie de operones específicos llamados "spo" con más de 125 genes, situados en cuatro zonas del genóforo. Los operones de la bacteria vegetativa están regulados parcialmente por las subunidades "s" de la holoenzima de la ARN-polimerasa que reconocen a los promotores. Los operones están

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

reprimidos durante el crecimiento vegetativo y se van activando de modo ordenado y secuencial, y una vez que han actuado, se inhiben de nuevo, substituyéndose secuencialmente las subunidades “s” , hasta que en la preespora actúan las subunidades sigma (σ) de la ARN-polimerasa. Al empezar la fase estacionaria del crecimiento, se integran señales ambientales, que en el caso del anthracis es la presencia de aire, y se pone en función el " sistema de repetidores de fosfatos", que se basa en fosforilaciones sucesivas, que comienzan cuando tres histidín-proteínquinas ceden su fosfato a la Spo0F; de la Spo0F-P, el P pasa a la Spo0B fosforilizandola, de la que el P pasa a la Spo0A transformándola en Spo0A-P, que es un regulador transcripcional esencial modulada por fosfatasas específicas, como la Spo0E. La Spo0A-P, interacciona, con promotores y con unos ARN que tienen las holoenzimas A y H provistas de la subunidad s que activan la transcripción de al menos 7 genes y operones que inician la esporulación.

La esporulación se realiza en 7-8 horas (a 37°C), en siete fases caracterizadas por cambios citológicos y bioquímicos. Cada fase se designa con un número romano, y entre paréntesis la letra “t” con un subíndice que indica el intervalo en horas de cada fase. La esporulación comienza en la fase 0 en la que el bacilo en forma vegetativa al final del periodo de crecimiento exponencial, contiene dos genóforos.

Fase I (t_0 a t_1). Los dos genóforos se condensan formando un ancho filamento axial en el centro de la célula, según su eje longitudinal. quedando unido cada uno a uno de los extremos de la célula. En el caso del B.anthraxis, se forman dos septos centrales que comienza por cuatro espículas de la pared enfrentados dos a dos (en el Cl tetani el septo es polar). El septo es una invaginación de la membrana y de la pared bacterianas. Las espículas están en una zona donde se forma un anillo de FtsZ que es una proteína contráctil de tipo tubulina; en esta fase se sintetizan y liberan al medio, antibióticos y exoenzimas, entre ellas serin-proteasas, metalo-proteasas, ribonucleasas, y α -amilasa. Se hidrolizan por proteasas proteínas intracelulares, cuyos aminoácidos se emplean para sintetizar proteínas específicas de la esporulación. Al iniciarse el septo se activa en la preespora la nueva subunidad “s” , la “s F”, que induce la aparición de la “s E” en la bacteria madre; la s E causa

la aparición de la “s G” en la preespora, la cual activa una cadena de reacciones que determinan la producción de “s K” en la bacteria original. Mientras tanto, los dos compartimentos siguen dos vías para controlar la transcripción. En la preespora, s F dirige la transcripción de s G, que a su vez dirige la transcripción del gen de la proteína de unión a ADN, la SpoVT. En la célula madre, la s E conecta el gen de otra proteína de unión a ADN, la SpoIIID, que a su vez logra la transcripción y construcción del gen de la s K, que activa el gen de factor transcripcional final, GerE.

Fase II (t_1 a t_2). Se completan los septos, depositándose nueva mureína entre las dos membranas adyacentes. (en los clostridios, un genóforo queda en el compartimento mayor y el 30% del otro se sitúa en el menor que será la preespora); la proteína SpoIIIE es una translocasa que "empuja" al resto del cromosoma dentro de la preespora antes de que se complete los septos. En esta fase continúa la síntesis de los antibióticos y de las exoenzimas

Fase III (t_2 - t_3). El protoplasto de la preespora, se independiza de la célula madre. Se degrada comenzando por el centro, la mureína del septo depositada en la fase II, hasta la periferia, proceso en el que intervienen los productos de varios genes. La membrana citoplásmica de la célula madre va creciendo unidireccionalmente en torno a la preespora, hasta que éste queda libre en el citoplasma de la esporangio.

El citoplasma de la preespora queda rodeado por dos membranas la interior de polaridad normal, y la exterior, derivada del crecimiento de la membrana de la célula madre, de polaridad inversa. Se detiene la síntesis de proteínas que continua en la célula madre.

Fase IV (t_3 a t_4). Se forma casi por completo la corteza de la espora. Se deposita peptidoglicano entre las dos membranas y en la pared; se pierde agua que desde 3-4 g por gramo de peso seco de la bacteria baja a 0,3 g lo que hace que la preespora sea refráctil en fresco. Comienza la síntesis del ácido dipicolínico, y el acúmulo de Ca^{++} y comienza la síntesis del exosporio. Fase V (t_4 a $t_{5,5}$). Los materiales de las cubiertas, sintetizados en las fases II y III en la bacteria comienzan a depositarse por fuera de la membrana externa. En el *B. subtilis* se van ensamblando capas, formadas por unas 14 proteínas diferentes. A esas proteínas se une en grandes

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

cantidades, cisteína. Sobre la membrana externa se deposita la proteína SpoIVA que recluta proteínas de andamiaje a la que se une la proteína CotE y a esta la CotD y otras formando laminas visibles en el microscopio electrónico, y finalmente se apone la proteína de cubierta externa CotA que interviene en las capas externas electrón densas. Sobre esta se depositan las otras proteínas de las cubiertas. Continúa el acúmulo de ácido dipicolínico, que sigue captando iones Ca^{++} para formar el dipicolinato cálcico. El compartimento mayor introduce activamente iones de calcio y sigue sintetizando dipicolinato, que son transportados a la preespora en donde forman un quelato que al retirar calcio libre estimula el paso de más Ca^{++} , difusión facilitada por ña inversión de la polaridad de la membrana. Al final de la fase V, la preespora ya es resistente al octanol.

Fase VI ($t_{5,5}$ a t_7). En esta fase la preespora madura hasta espora. La corteza adquiere la mureina específica, las cubiertas también maduran, el citoplasma se hace más homogéneo y más electrón-denso. la espora se ha hecho resistente al calor, al cloroformo, a las radiaciones ultravioleta y a la lisozima

Fase VII (t_7 a t_8). La bacteria original se autolisa y se libera la espora madura. El exosporio si existe, se elimina con el resto de citoplasma, de la bacteria original, como un saco vacío, arrugado, unido a las cubiertas.

La espora tiene una concentración de agua inferior a la décima parte de la de la forma vegetativa. La deshidratación se produce al acidificarse el espacio cortical en la fase III por la entrada de iones H^+ en el protoplasto; compensatoriamente salen muchos iones K^+ , junto con moléculas de agua. La pérdida de iones potasio y del calcio por su quelación hace que la corteza se queda sin cationes que no pueden neutralizar las cargas negativas de la mureina cortical; por eso la mureina se expande al repelerse sus cargas negativas hasta que toca a las cubiertas presionando y compactando al protoplasto del que sale más agua, facilitando sus interacciones con los cationes residuales. Así se forma un gel a base de una matriz formada por macromoléculas y por pequeñas moléculas densamente empaquetadas, unidos entre sí e inmovilizados.

Las ENDOSPORAS están formados por:

1° Protoplasto equivalente al núcleo ("core", en inglés) que contiene un genóforo completo, condensado, los plásmidos y los componentes necesarios para iniciar la germinación.

2° El citoplasma muy deshidratado, está constituido por una malla de dipicolinato cálcico formado por la quelación de iones Ca^{++} con ácido dipicolínico, (el Ca^{++} constituye el 1 al 3% del peso seco de la espora y el ácido dipicolínico, exclusivo de las esporas, el 10%.) en cuya trama están los demás componentes. El dipicolínico se sintetiza a partir del ácido aspártico por una desviación de la vía que llevaría a síntesis de la lisina y del ácido mesodiaminopimélico de la pared bacteriana. El citoplasma contiene algunos ribosomas ARNt, cofactores, ARN polimerasa, nucleósidos mono- y difosfatados, ácido 3-fosfoglicérico y varias pequeñas proteínas especiales, las SASP, "small acid-soluble proteins", muy semejantes entre sí, de 60 a 75 aminoácidos, que pueden llegar a constituir el 5% de la proteína total de la espora. Las SASP forman complejos con el ADN al que cubren por completo, a razón de un monómero de SASP por cada 5 pares de bases, cambiando su configuración B a la rara A, que hace resistente al ADN de la acción de los UV. Las SASP son la primera familia multigénica, descrita en las procariotas. Cada proteína está sintetizada por un gen *ssp* monocistrónico. Los genes de esta familia están repartidos en diversas regiones del cromosoma bacteriano y han surgido por duplicaciones génicas y diversificación de secuencias. Carece de ARNm, de enzimas para las síntesis, de aminoácidos, de bases nitrogenadas libres, de cofactores reducidos (NADH; CoA), de NTP, y de ATP.

3° La membrana citoplásmica es la membrana interna de la espora, que rodea al citoplasma; es una bicapa lipídica carente de fluidez, posiblemente como resultado de su estructura policristalina.

4° La pared está situada por fuera de la membrana interna de la espora, Está formada por un peptidoglicano similar al de la bacteria en forma vegetativa con sus característicos enlaces entre los tetrapéptidos.

5° La corteza o córtex, rodea externamente la pared. Es transparente a los electrones, gruesa, a base de láminas concéntricas. Está formada por un peptidoglicano parecido al de la pared y aunque el 30% de la mureina tiene unido al acetilmurámico tetrapéptidos normales, solo el 6% de los

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

tetrapéptidos tienen puentes entre ellos. El 15 % tiene solo L-alanina. Esto hace que la corteza tenga estructura de gel que sea mas laxa y flexible que la mureina y que sea capaz de expandirse en ausencia de cationes que neutralicen los grupos negativos del diaminopimérico y del glutámico; también explica su rápida autólisis, durante la germinación de la espora. El 55 % de los ácidos acetilmurámico forma lactama que hace al espora muy resistente a la lisozima.

6° La membrana esporal externa, rodea a la corteza. Se forma por una invaginación de la membrana citoplásmica de la bacteria vegetativa madre. Su polaridad es la contraria a la de la membrana interna de la espora.

7° Las cubiertas de las esporas están formados por una o varias proteínas de tipo queratina, muy ricas en aminoácidos hidrófobos y cisteína la mayoría de la cual se apone después de la traducción, por modificación de la proteína inmadura. La cisteína permite numerosos puentes disulfuro, que estabilizan a las cubiertas y las hace muy compactas. Las cubiertas llegan a constituir el 60% del peso seco de la espora; son muy insolubles e impermeables, e impiden la entrada de numerosos agentes químicos, incluidos los que son tóxicos para la bacteria.

8° El exosporio es una estructura superficial que solo tienen las esporas de algunas especies; puede llegar a tener el 50% del volumen de la espora. Su aspecto varía según las especies. El exosporio está constituido por una mezcla de proteínas, polisacáridos complejos, y lípidos. Su capa interna, de unos 16 nm de ancho está formada por el ensamblaje de subunidades de simetría hexagonal, que dejan unas perforaciones de 7,6 nm de diámetro. Su capa externa de 6 nm de grosor dispone de proyecciones filamentosas de unos 25 nm de longitud. El exosporio es muy resistente a los enzimas proteolíticas. Es posible que el exosporio concentre las de las cubiertas.

Las endosporas son células en estado latente, criptobiótico o de dormancia, en el que casi se anula su metabolismo, y la respiración debido a la práctica ausencia de agua. Son prácticamente insensibles al medio, lo que les permite pervivir en situación extremas incluso en ausencia de nutrientes. Son muy resistentes a la acción de diversos agentes químicos como el octanol, el cloroformo, desinfectantes, al calor

etc., por la impermeabilidad de las cubiertas, debida a su gran grosor y a su peculiar composición a base de proteínas ricas en aminoácidos hidrófobos y con abundantes puentes disulfuro (cistinas). Las esporas resisten los 100°C. durante 15 minutos y algunos incluso los 120°C. lo cual dificulta la esterilización de fómites debido a la presencia de macromoléculas formadas por las reacciones intermoleculares y especialmente con los cationes, debidas a la compactación de sus componentes por la deshidratación. La resistencia a los rayos ultravioleta depende de la absorción ejercida por ácido dipicolínico. El complejo de las SASPs con el ADN impide la perdida de adenina y de guanina y la deshidratación impide que los UV formen dímeros de pirimidinas adyacentes de la misma cadena. del ADN. Aunque los UV generan 5-timinil-5,6,dihidrotimina, este tóxico no mata a la bacteria pues al germinar se activa un sistema de detoxificación de este fotoproducto. la espora resiste a las radiaciones ionizantes debido a la lactama del murámico. la espora resiste a la lisozima y a las radiaciones ionizantes por la lactama del murámico.

EPIZOOTIOLOGÍA El Carbunco es una enfermedad de herbívoros, especialmente de los bóvidos. La zoonosis carbuncosa está muy relacionada con el suelo, y aunque los animales se pueden contagiar entre ellos, la mayoría de las transmisiones se realizan a través del ciclo animal-suelo-animal o por medio de la paja, el estiércol, cuerdas, pesebres, apriscos, camas, contaminados con esporas. La tierra contaminada es el reservorio, determina focos enzoóticos, que pueden recrudesce la enfermedad. Los animales se infectan principalmente al comer pastos, piensos como harinas de carne, sangre o huesos o al beber agua, contenido esporas procedentes de zonas donde hay cadáveres carbuncosos. Muy rara vez la espora del aire puede entrar por las abrasiones cutáneas de los animales, causadas a veces por artrópodos, aunque es muy rara, la transmisión por artrópodos ya que en ese caso la enfermedad sería epizootica. Thenko atribuyó a los tábanos el 4,5 % de los casos humanos y equinos de Hungría.

El carbunco animal no suele ser epizootico, sino esporádico con casos aislados relacionados casi siempre con pastos en terrenos

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

contaminados. En los 492 brotes señalados en Gran Bretaña, en 1964 se afectó sólo un animal en 456 casos; en el brote de Oklahoma de 1957, el 60 % de los rebaños estudiados perdieron sólo una res.

En 22 casos en el Tchad estudiados por Sirol y cols. (1973), la enfermedad humana se dio siempre en zonas de campos malditos, en donde permanece, y se olvida porque el ganado está vacunado, pero si se deja de vacunar, se producen casos en animales y éstos a su vez contagian al hombre. Las aguas residuales de tenerías, fábricas de lana etc., pueden contener esporas y en los Estados Unidos se han producido brotes en bóvidos por pastos que se regaban con efluentes de tenerías.

La espora puede penetrar por las microerosiones cutáneas, vía más eficaz que la oral, aunque los animales se contagian en la mayoría de los casos por vía digestiva al comer pastos de los terrenos contaminados. El heno y los piensos de harina de huesos infectados conservan al menos 12 años las esporas. Los animales poco susceptibles, como el cerdo, se infectan difícilmente por vía oral. El contagio es más fácil en verano, pues el polvo contiene esporas que penetran por las heridas que hacen las raíces y las hierbas cortas y duras por la sequedad, y además los animales, al pastar, rozan la tierra con el hocico, por lo que ingieren más fácilmente la espora. En los climas templados, la enfermedad se presenta incluso en invierno. Las epizootias, tienden a aparecer después de cambios climáticos, como fuertes lluvias, inundaciones o sequías. Los animales osteófagos se contaminan más fácilmente.

En las áreas enzoóticas la enfermedad se presenta en forma endemo-esporádica con brotes epidémicos especialmente en verano. En los siglos XVIII y XIX se produjo una epizootia en el Sur de Europa que devastó la ganadería; en Francia llegó a morir en un año la cuarta parte de sus bóvidos y óvidos. Es posible la presentación de casos esporádicos en zonas declaradas libres de enfermedad debido a la resistencia ambiental de las esporas.

Hay amplias diferencias de susceptibilidad de las diferentes especies; los bóvidos, los cápridos, los óvidos (el carnero de Argelia es muy resistente), los osos, y los herbívoros gregarios silvestres son muy susceptibles. La susceptibilidad depende de: a) la eficacia de la fagocitosis; b) la presencia en el suero de sustancias bactericidas que se

han encontrado en animales resistentes, derivadas de precursores inactivos; es posible que se trate de un polipéptido o de una histona, y c) factores ambientales. Pasteur logró producir la enfermedad en la gallina, sumergiendo una o ambas patas en agua fría, y en las ranas mantenidas a 36-38°C. Las radiaciones y la cortisona rebajan la inmunidad natural, de modo que incluso cepas poco virulentas pueden producir la enfermedad. La dieta también influye. La lisina se requiere para la fagocitosis (Gray, 1963). Las ratas alimentadas con carne son más resistentes que las que se nutren con grano. Es posible que la resistencia de los carnívoros sea debida a la ingesta de proteínas animales. (se ha señalado que los habitantes de zonas con hambre son más susceptibles a la enfermedad).

Al entrar, la bacteria en el tubo digestivo, Pasteur decía que entraba por las amígdalas, penetra en tejidos y germina a las pocas horas, adquiriendo rápidamente la cápsula, con lo cual resiste a la fagocitosis por los PMN. Al cabo de 1-5 días (20 para el Código Sanitario Internacional) de incubación se produce una sepsis fulminante con excitación y fiebre brusca que pronto pasa a depresión, dificultad cardíaca y respiratoria, temblor, convulsiones, anorexia, trastornos intestinales con dolor abdominal, esplenomegalia y hematuria. Si se trata de una hembra preñada, se produce el aborto, y si lactaba, se suprime la producción de leche o disminuye dando leche alterada o teñida de sangre. La diseminación de la bacteridia ocasiona edemas locales en varias áreas, especialmente en el cuello, sobre las que aparecen pústulas. La sangre se hace incoagulable, presumo que por CID y se producen hemorragias por los orificios naturales. El animal casi siempre muere al cabo de 1-2 días, aunque a veces sobrevive algo más y unos pocos se restablecen. Es importante hacer el diagnóstico diferencial con la dermatitis pustular que afecta a óvidos y a cápridos, causada por el poxvirus Orf.

Los bóvidos, muy sensibles, desarrollan sepsis con esplenomegalia intensa, que llevó a denominar al cuadro bacera (también mal de bazo, mal de sangre). Los anglosajones la llaman block bane o veneno negro, pues bane es una palabra que significa, en lenguas teutónicas, muerte, destrucción o asesinato. Otro nombre que se da a la enfermedad es el de murraine o morriña epizootica, término que parece proceder del francés antiguo, moraine, que a su vez procedería del latín

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

morire. El 80 % de los animales muere en poco tiempo, aunque algunos sobreviven desarrollando abscesos cutáneos y pústulas. Los équidos son más resistentes, pero no es raro el proceso en ellos. Desarrollan sepsis subagudas con trastornos intestinales iniciales y luego hematemesis que ocasiona cólicos. En ocasiones aparecen pústulas.

Cuando hay cierta resistencia, el proceso tiende a quedar localizado en la puerta de entrada cutánea. Así, en los cerdos, la enfermedad puede quedar localizada en ganglios, en el intestino o en la piel y puede curar espontáneamente, aunque, si hay afectación de laringe o faringe, la llamada angina carbuncosa puede producir asfixia por el edema gelatinoso que se forma. Se ha encontrado a la bacteria en ganglios submaxilares y mesentéricos de algunos cerdos sanos, sin que se halle en bazo, músculos, etc., lo cual sugiere que ha habido infección sin que se hubiera desarrollado la enfermedad. Redmond y cols. (1997) no encontraron bacilos o solamente unos pocos en la carne de cerdos infectados veintiún días antes por esporas adicionados al pienso aunque llegó a morir el 4%. Se sabe que los elefantes pueden padecer la enfermedad. En los zoológicos se han producido brotes en leones, leopardos, pumas, osos, etc. por comer carnes carbuncosas. Los roedores suelen ser resistentes. El visón aleutiano puede padecer la enfermedad si se le da carne de animales carbuncosos. La inoculación de esporas a ratas mata sólo a un 14 %. El cobaya, en cambio, es un animal sensible. Los perros y gatos son muy resistentes, sobre todo los adultos; pueden morir como el cerdo por edema laríngeo.

Las aves, entre ellas los pájaros, son muy resistentes, y lo son algo menos las crías. Se han dado, sin embargo, casos en avestruces (Stein, 1955) y en patos. Shrewsbury y cols. (1952) encontraron la bacteria en las heces de águilas y en el buche del gorrión inglés. Afecta a menudo a animales silvestres. Los animales de sangre fría, entre ellos, los peces, son muy resistentes. Las ranas también lo son, pero si se inocula una rana y se mantiene a 37-38 °C, se desarrolla la infección en ella.

2º CARBUNCO HUMANO. El carbunco es la zoonosis, más típica. El hombre tiene una resistencia intermedia entre la de la oveja y la del perro. Al comienzo del siglo XX se producían en Rusia un millón de casos de

MANUEL DOMÍNGUEZ CARMONA

carbunco humano con una letalidad de 25. Actualmente es rara en la UE. En 1958, se produjeron en el Mundo entre 20.000 a 100.000 casos. En USA se producían a comienzos del siglo XX una media de 127 casos anuales; en 1966 se dieron 19 casos y actualmente se detecta menos de un caso al año. Cada vez hay más países exentos. Sigue siendo problema en Asia Central en donde aparece la enfermedad en el ganado estabulado y en el silvestre. En Haití hacia 1975 se producían varios cientos de casos anuales. En Zimbawe, en 1979-1980 se produjo una epidemia que afectó a casi 10.000 personas.

En España el carbunco es esporádico con algunos brotes causados al manipular productos animales a menudo importados de países con áreas enzoóticas. En el quinquenio 1941-1948 se declaraban unos 1.500 casos anuales que bajaron a unos 250 casos (tabla 48-2).y en la década 1985-95 a unos 100 casos, concentrados en unas pocas regiones de la Meseta central entre las que se encuentra Extremadura .

Año	Casos declarados	Tasa de morbilidad por 10 ⁶	Defunciones	Tasa de mortalidad por 10 ⁶	Letalidad
1949	1628	58,9			
1950	1172	61,8	41	1,4	
1951	1312	46,7	19	0,67	
1952	887	31,3	18	0.63	
1953	1035	36,3	10	0,35	
1954	1132	39,4	25	0,87	
1955	865	29,9	18	0,62	
1956	682	23,4	17	0,58	
1957	737	25,0	8	0,27	
1958	798	26,9	12	0,40	
1959	632	21,1	2	0,07	
1960	603	20,0	5	0,15	

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

1961	590	19,3	9	0,29	
1962	640	20,7	7	0,33	
1963	419	13,1	12	0,38	
1964	449	14,2	4	0,12	
1965	455	14,3	5	0,15	
1966	353	10,9	3	0,09	
1967	316	9,7	6	0,18	
1968	350	10,6	5	0,15	
1969	311	9,3	4	0,12	
1970	384	8,4	2	0,06	
1971	198	5,8	0	0	
1972	220	6,4	4	0,11	
1973	198	5,7	1	0,03	
1974	232	6,6	1	0,03	
1975	251	7,1	3	0,09	
1976	216	6,0	2	0,06	
1977	222	6,1	0	0	
1978	227	7,2	2	0,06	
1979	298	8,1			
1980	288	7,7			
1981	261	6,9			
1982	310	8,2			
1983	311	8,4			
1984	344	8,6			
1985	330	7,4			
1986	241	6,2			
1987	275	6,8			

MANUEL DOMÍNGUEZ CARMONA

1988	218	5,4			
1989	137	5,4			

Tabla 48-3. Tasas de morbilidad por carbunco humano por Comunidades Autónomas (1983-1985)

Comunidad Autónoma	Tasa media anual por 10 ⁵ habitantes
Castilla-La Mancha	7,24
Extremadura	2,82
Aragón	2,71
Castilla y León	1,39
Navarra	0,98
Madrid	0,42
Rioja	0,38
Andalucía	0,38
Murcia	0,36
Baleares	0,12
Asturias	0,07
Cantabria	0,06
Valencia	0,03
País Vasco	0,02
Canarias	0,00
Galicia	0,00
Ceuta y Melilla	0,00
Cataluña	0,00

Carbunco cutáneo. La “Pústula maligna” o antrax cutáneo es la forma clínica habitual, que presentan el 96 % de los casos. Se debe a la entrada del bacilo o de la espora a través de soluciones de continuidad de la piel, causadas por espinas, huesos, artrópodos, etc., o por roces repetidos. Por la gran resistencia que tiene el hombre, el proceso queda acantonado en la piel. Besredka decía que «si el hombre no tuviera piel, no padecería carbunco». La transmisibilidad es baja ya que requiere contactos reiterados y una puerta de entrada, a lo que pensamos se debe que la lesión sea casi siempre única. Fue descrita por Maret, en 1752. Al cabo de 1 a 5 días aunque en ocasiones llega a los diez, aparece en la puerta de entrada una mácula roja de unos pocos milímetros de diámetro, que pasa enseguida a pápula eritematosa, pruriginosa, poco dolorosa, a la que por su parecido con la picadura de una pulga se la llamó «pulga maligna». La lesión es única aunque excepcionalmente han aparecido hasta tres pústulas. Enaus y Chaussier escribieron, hacia 1796, que «la primera impresión del mal es semejante a la ligera picadura de un insecto». A las 10-18 horas aparece a menudo en su ápice una vesícula, pequeña, aunque puede llegar al tamaño de un garbanzo, de base consistente y que, al abrirse por el rascado, da salida a un contenido serosanguinolento, que puede tener algunos PMN, pero nunca pus. En dicha serosidad o en el exudado de las escarificaciones de la pápula se encuentran muy abundantes bacterias. A los dos días aparece en el contorno del eritema una corona más o menos regular de vesiculitas del tamaño de una cabeza de alfiler, al principio claras y brillantes, y que luego, al crecer, pasan a un color azulado con contenido oscuro o teñido de sangre. Es la areola vesicular de Chaussier o collar de la reina. A veces faltan las vesiculitas o están relativamente alejadas de la escara; en otros casos son grandes - bullas- con líquido serosanguinolento. Cuando aparece el anillo de vesículas, la pápula central se ulcera y rápidamente se seca y necrosa, formando una escara al principio amarilla que pasa enseguida a negra, seca, dura y deprimida como un trocito de carbón de 1 a 14 mm debida a la necrosis superficial. En pocas horas, la escara sigue extendiéndose y aumenta el número de vesiculitas, de modo que, hacia el quinto día, la

escara es gruesa, negra y muy adherida a una zona de eritema. El conjunto se parece a un ágata sobre un rubí rodeado de perlitas, y montado en la escarapela roja de un intenso edema de diversa extensión. Los bacilos pueden extenderse a lo largo de los linfáticos, causando linfangitis, sobre todo en las formas graves, e hipetrofia de los ganglios regionales que están ligeramente sensibles, blandos y de color oscuro azulado. El infarto ganglionar puede durar bastante, aunque desaparece espontáneamente y más rápidamente con el tratamiento. Inicialmente hay infiltración de macrófagos que engloban a los microorganismos y a algunos neutrófilos. Pronto se sobrepasa la capacidad fágica de aquéllos y los microorganismos quedan libres en la lesión. La lesión se acompaña de edema, discreto inicialmente, que progresa rápidamente, de modo que hacia el tercer día puede ser grande; cuando afecta tejidos laxos, puede ser enorme, distendiendo y fragmentando al tejido conectivo. Cuando afecta al párpado se inicia con conjuntivitis que rápidamente se hace muy intensa; el edema palpebral, se extiende, en torno al ojo, a cara y frente, adquiriendo un tono azulado. El líquido del edema está constituido por exudados fibrinosos y sanguinolentos. No hay pus, salvo en los casos raros en que hay infección secundaria. Cuando el edema afecta al cuello, puede infiltrar a la glotis y al mediastino, ocasionando disfagia, afonía, insuficiencia respiratoria y colapso y comprimir la tráquea, y extenderse a órbita, pecho y especialmente si la lesión está en el tórax llegar hasta al escroto.

La pústula suele evolucionar favorablemente, desprendiéndose la escara en unos 15 a 30 días, pero puede infectarse secundariamente y en este caso, la lesión cicatriza lentamente. La cicatriz puede ser retráctil, exigiendo cirugía reparadora, si asienta en párpados, boca o flexuras.

Los fagocitos de los sinusoides marginal e intermedio de los ganglios engloban y destruyen a la bacteria, pero en las infecciones intensas se produce dilatación hemorrágica de los sinusoides y se desintegran los ganglios bloqueando los linfáticos. Si la linfangitis es muy marcada, se debe sospechar una infección secundaria.

La localización depende de la puerta de entrada. Por ello predomina en las partes descubiertas y varía según la actividad profesional. Curiosamente, en los dedos y antebrazo, que tanta relación

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

tienen con objetos contaminados, es rarísima; se ha señalado en carniceros. La localización labial se debe al hábito de mojar cuerdas con saliva metiéndolas en la boca y por eso es frecuente en tejedores e hilanderos. Las lesiones de los 1.234 casos ocurridos en Teruel desde 1941 a 1962 se localizaron (Pinedo) de este modo tabla 48-4.

No son raras las lesiones en zonas intertriginosas, como en el cuello, en los pies y en la zona del cinturón. En portadores de sacos, las lesiones pueden asentar en nuca y en la espalda, y son muy raras en la ingle.

Localización de las lesiones carbuncosas en el hombre. Porcentajes

Martínez Saura y cols.							
Casos atendidos en el Sirol y cols.							
(1973),(1976), casos en el							
Hospital	Koch, W. (1935), 22 casos en el Hospital del Rey 1.077 casos Tchad desde 1927-1979	Lange(1934), 937 casos	Ganter, 68 casos	London (1884-1954)			
Cara y cabeza	43,5	45	102	52,81			
Párpados			39,1				
Mejillas			16,4				
Frente		8,9					
Mandíbula			8,9				
Cara	7,4	44,10	9,08				
Labios	3,0						
Cráneo			27,24				
Cuello y nuca	41,5	31	7,4	36,26	13,62	14,07	
Miembro superior	12,5	20	7,4	12,74	45,40	27,24	
Miembro inferior	1,2	2	1,5	3,92	@,54	4,09	
Tronco	1,2	2		1,81			
Sin precisar			1,5	1,96			

Tabla 48-4. Localización de las lesiones carbuncosas en 1.234 casos humanos vistos por Pinedo desde 1941 a 1962

Localización única	%	Localizaciones múltiples	%
Mano	35,62	Ambas manos	0,24
Antebrazo	19,38	Antebrazo y manos	0,41
Cara	18,01	Antebrazo y brazo	0,32
Cuello	5,75	Cara y cuello	0,16
Párpado	3,87	Cuello y antebrazo	0,08
Brazo	2,90	Ambos antebrazos	0,16
Muñeca	3,73	Cara, cuello y antebrazo	0,08
Labio	1,93	Cara y tórax	0,08
Pierna	1,70	Cara y antebrazo	0,08
Rodilla	0,41	Ambos brazos	0,16
Pie	0,32	Cuello y dorso	0,08
Tobillo	0,16	Cara e intestino	0,08
Muslo	0,15	Ambos senos	0,16
Región lumbar	0,08	Sin especificar	0,73
Región dorsal	0,08		
Cuero cabelludo	0,24		
Intestinal	0,24		
Oreja	0,24		
Nariz	0,81		
Tórax	0,73		
Abdomen	0,32		

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

El EDEMA MALIGNO es una forma clínica del carbunco, sin pústula y solo aparece un edema precoz y extenso, debido a la inoculación directa del bacilo en el tejido celular subcutáneo, en el que las esporas germinan y los bacilos se multiplican rápidamente liberando las toxinas que producen el pronunciado edema, septicemia y necrosis tisular. Es una forma menos frecuente que la de la pústula y mucho más grave. El edema es enorme, duro, caliente, indoloro, brillante, rosado a rojo violáceo y surcado de manchas debidas a la extravasación de sangre. En su superficie aparecen ampollas irregulares que contienen un líquido cetrino a menudo turbio. Hay adenopatías satélites. El edema maligno asienta más a menudo en los párpados y en la cara, invadiendo rápidamente el ojo, nariz, boca, orejas, mejillas, etc., deformando la cara. Puede dar escara por distensión, diferente de la escara de la pústula. La evolución es muy rápida, suele curar en 2-3 días.

Los pacientes de carbunco cutáneo no tienen demasiadas molestias, aunque suele estar muy afectado el estado general. En la mitad de los casos no suele haber fiebre, que puede llegar a 38,5°C con escalofríos; en otros casos aparece rápidamente hipotermia lo cual es de mal pronóstico. Puede haber cefaleas, sobre todo al principio, astenia, quebrantamiento, anorexia y oliguria. Son signos de gravedad la presencia de vómitos y un pulso rápido y débil. El estado mental está normal y pese a la gravedad clínica no hay ansiedad. Hay leucocitosis, superior a los 20.000 leucocitos por mm³ con neutrofilia de un 80 % y discreta desviación a la izquierda. Los anticuerpos aparecen en la convalecencia y no se producen en las formas graves que matan antes de formarse las inmunoglobulinas, predominando la IgG3 en los convalecientes, la IgG1 en los que padecieron la enfermedad, mientras que los vacunados producen las cuatro subclases de IgG. Es rarísimo padecer dos veces el carbunco no por inmunidad sino por la poca frecuencia del proceso.

Complicaciones. Las formas cutáneas del carbunco pueden causar trombosis, especialmente de senos, gangrena miocarditis. El edema puede afectar al cuello, comprimiendo la laringe y la tráquea, y extenderse a

órbita, pecho y hasta al escroto. Cuando afecta el tórax, puede producirse también edema en las zonas próximas y causar edema pulmonar, con asfixia, colapso, hemorragias y fallo renal con necrosis papilar, cuadros que confieren al carbunco una alta letalidad.

El Diagnóstico diferencial del carbunco cutáneo, es innecesario en la mayoría de los casos, pues la clínica suele ser clara. Inicialmente puede confundirse con un forúnculo y con otras estafilococias cutáneas. El forúnculo está centrado por un pelo, es pustuloso y doloroso. Carece de escara. La erisipela está delimitada por un resalte, es dolorosa, y se acompaña desde el principio, con fiebre. El chancro luético no tiene vesículas ni escara. Las picaduras de artrópodos pueden ocasionar un gran edema en la cara. Producen una escara instantánea y pequeña. Al pasar sobre ella una torunda con amoníaco toma color pardo (signo de Girouard). Los flemones dentarios, muy dolorosos, están relacionados con caries u otras infecciones de las piezas dentarias. En los eczemas agudos, el edema es menos intenso. El zoster ocular tiene menos edema y es muy doloroso.

Epidemiología del carbunco cutáneo. El hombre sufre la enfermedad, pero no interviene en su transmisión, ya que no contagia ni a otros hombres ni a los animales. La fuente de infección del hombre son los animales infectados, y sus productos, transmitiéndose por el contacto (inoculación) accidentalmente, o lo que es más frecuente, de modo profesional en agricultores, trabajadores pecuarios, pastores, esquiladores, carniceros, labradores, matarifes y veterinarios, que manipulan el animal vivo o sus productos frescos, y que pueden sufrir salpicaduras de sangre, carne, estiércol, etc. Es en estos trabajadores enfermedad profesional. Enaus y Chaussier, en su “Breve tratado de la pústula maligna”, traducido por Piñera y Siles, y publicado en España en 1787, escribieron: «la pústula maligna nunca ataca sino a los vaqueros, pastores, labradores, albéitares, zurradores, carniceros y generalmente a los que tocan y cuidan las reses, manosean sus pellejos, laban (sic) las lanas o las trabajan todavía recién esquiladas». En el Hospital del Rey, ingresaron entre 1927 y 1974 157 casos de varones y 63 de mujeres cuyas profesiones por orden decreciente: Pastores y vaqueros, Obreros del campo, Amas de casa que prepararon carne de animales enfermos y Carniceros y matarifes. Se han

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

dado casos en trabajadores de muelles y de transporte al cargar embalajes que contenían lanas, etc., o pellejos confeccionados con piel de animales enfermos. Los cueros importados a Liverpool tenían esporas entre el 3,1 % en los procedentes de bóvidos de Argentina a 64 % en las pieles de ovejas de África occidental. Sin embargo, entre 1947 y 1952 sólo se produjeron 130 casos en trabajadores que manejaban cueros y pieles. En Oriente Medio se producían casos por secar la piel depilada en casas de baños. Un caso curioso relatado por Faure fue el de un carnicero que desarrolló una pústula maligna en el labio inferior, por haber despellejado a una vaca insuflando con la boca.

Aunque en los animales se da en toda época, en el hombre, la enfermedad aparece casi exclusivamente en el momento de la recrudesencia primaveral de la enzoótia y sobre todo al final de ella en septiembre y después en agosto y julio. Gamter relaciona la aparición de la enfermedad en Marruecos a fines de agosto a que, el calor, sudor, polvo, etc., producen prurito y al rascarse se inoculan las esporas que son esparcidas en esa época por el esquileo. Las bacteridias de la sangre y de otros productos y las esporas del polvo entran por erosiones, especialmente las de las partes descubiertas, más expuestas.

La transmisión puede hacerse por fómites. El Levítico dice que el carbunco se puede transmitir por vestidos, y Virgilio describió una epidemia por el uso de pieles, cuero, lana pelo, cerdas, etc. de reses enfermas en donde la bacteridia resiste unos 15 días, y muchos años las esporas, pues estos no se inhiben por las bacterias. Vicq d'Azir (1748-1794), fundador de la anatomía comparada, en su “Médecine des bêtes à cornes”, publicada en París, en 1781, relata un caso en una persona que había manejado la piel de un animal que había muerto de carbunco 6 meses antes. El lavado, el teñido y la confección del tejido en el caso de la lana reducen mucho el riesgo y el tanizado, especialmente la inmersión en cal, destruye a las bacterias. En la Primera Guerra Mundial se dieron casos en soldados rusos que emplearon abrigo de piel de carnero, apareciendo la pústula, sobre todo, en las zonas de roce o en donde estaba la piel macerada. Piédrola describió un caso en una mujer cuya falda se manchó con carne que estaba cocinando. En la guerra civil de 1936-39 enfermaron unos soldados que descansaron en un terreno sobre el que se

había sacrificado ganado enfermo, en la provincia de Toledo. Otros fómites son los instrumentos que usan los -esquiladores, ganaderos etc. Están. expuestos los trabajadores de mataderos que transportan huesos en sacos y los obreros de las fábricas de gelatina (Marchaud, 1967). En estos trabajadores, las lesiones son casi exclusivamente cutáneas, sobre todo en la cabeza, en el cuello y brazos, debido al roce.

Para obtener sebo, cola, gelatina y carbón animal (usado para refinar azúcar, o como adsorbente de tóxicos). se tratan los cascotes, los cuernos y los huesos con calor y con sustancias químicas que eliminan a las esporas, por lo que no suponen riesgo. Tampoco lo tiene la harina de hueso que se adiciona a los piensos para enriquecerlos en sales cálcicas, pues se tratan con vapor de agua. En cambio el triturado de cuernos y de huesos para fertilizantes, produce mucho polvo que puede ser peligroso. El 85 % de 21 muestras de harina de hueso, importadas a Inglaterra en 1959 desde Pakistán y la India, tenían esporas.

En 1957 se produjeron 5 casos en manipuladores de pelo de cabra en Manchester, con 4 muertes. Una persona que padecía sarcoide de Beck quiescente, solo estuvo expuesto una vez en la que pasó por el recibidor abierto de una tanería (Brachman y cols., 1961).

En diciembre de 1973, un barco hospital de Estados Unidos estaba anclado en Puerto Príncipe (Haití), en donde había habido anteriormente unos 40 casos de carbunco. Una periodista que viajaba en el barco bajó a tierra el día 13, no tuvo contactos con ningún enfermo, pero compró bongos y un gran congo (especie de tambor de madera con funda de piel de cabra, en la que quedaban franjas de pelos intactos). El día 28 desarrolló un carbunco en el párpado izquierdo; en dos tambores se encontró el *B. anthracis*. Los Centers for Diseases Control encontraron la bacteria en el 5 % de 124 tambores y en dos caretas de piel curtidas. Flye Sainte Marie vio casos en Marruecos ocasionados por almohadas de piel de cabra, que ocasionaron pústulas malignas en el ángulo orbitario y en otras zonas de la cara. Era clásico el carbunco producido por brochas de afeitar confeccionadas con pelos de animales enfermos. El 16,7% de los 120 casos tratados entre 1884 y 1954 en el London Hospital se debieron a brochas. Piédrola cita el caso de transmisión por una navaja de afeitar que se había utilizado para rasurar animales enfermos. Los microorganismos

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

pueden quedar vivos en los frotis sobre porta y se ha producido al menos un caso de carbunco por esta causa. Se han señalado casos por contacto con piensos o con abonos contaminados, incluso por cosechas cultivadas en suelos con esporas.

Se ha descrito la transmisión mecánica por medio de insectos. La mosca doméstica puede vehicular las esporas pasivamente. Magnin, en 1874, señaló el papel importante de las moscas en la transmisión. Raimbert transmitió la enfermedad al cobaya, al que inoculó triturado de moscas que 24 horas antes habían estado sobre el cadáver de un animal carbuncoso. Poco papel pueden tener las moscas de la carne, tales como las *Sarcophila*, *Wohlbartria* o *Sarcophago*, pues sólo son chupadores sin que perforen la piel de los animales. Davaine logró transmitir la enfermedad al cobaya, al que había inoculado un triturado de estas moscas. Su papel en todo caso sería pasivo.

Los artrópodos picadores al chupar sangre de los animales enfermos o de sus cadáveres absorben millones de bacteridias, ya que la sangre es incoagulable, y pueden así teóricamente transmitir la enfermedad. Los casos debidos a picadura de artrópodos son lógicamente cutáneos y suelen afectar la cara, sobre todo los párpados en donde pican cuando la persona duerme. Piédrola vió un caso en el pecho de una mujer que fue picada mientras lactaba. Hay que tener en cuenta que la mayoría de los datos se obtienen del interrogatorio de los enfermos, y, si hubo una picadura días antes, más o menos próxima, hay tendencia a indicar la picadura como origen de la enfermedad. Además, la enfermedad es pruriginosa y se parece inicialmente a la picadura de un artrópodo, lo cual aumenta la tendencia a pensar que la causa era esta picadura que se complicó después. Pinedo atribuyó a esta causa el 11,87 % de los 1.238 casos vistos en Teruel, entre 1941 y 1962. Se ha incriminado a la mosca de los arrozales, a la mosca equina, etc. Leroy des Barres transmitió la enfermedad inoculando triturado del ácaro *Glycifago* del suelo de talleres donde se trabajaba con productos animales. Las larvas y adultos del *Dermestes vulpinus* eliminan con sus heces la espora carbuncosa. Los cabileños marroquíes confieren al redúvido "Bounif" un papel transmisor. Los tábanos se pueden contaminar al picar a animales vivos (no pican a los cadáveres) pero la bacteria persiste en el artrópodo poco tiempo por

lo que su papel transmisor es poco importante. En Laponia la incidencia del carbunco, es baja y hay muchos tábanos y el Mediterráneo la situación era la contraria. Sirol y cols. (1971) achacaban a la picadura de un tábano en la cara externa del codo a mujer francesa de 39 años en el Tchad, zona en la que apareció a los tres días una pústula maligna. Un caso literario se debe al novelista Henry Murger (1822-1861); en su novela “El Zueco” publicada en 1860, relata que un carretero que había recogido el estiércol derramado, “lanzó de pronto un juramento que expresaba mas susto que cólera, y arrojando enseguida al suelo su horca, aplastó una mosca negra y velluda, cuya picadura había dejado en su epidermis un punto negro. ¿Que tiene usted? -Le preguntó Mélie, atraída a su lado por su grito e inquieta por la palidez que cubría su cara. Sin responderle, el carretero entró en la cocina, cogió rápidamente unas tenazas que halló en un rincón del hogar, y las metió en el incandescente brasero. Su silencio y la rapidez de sus movimientos expresaban un terror invencible. Retiró del fuego las tenazas al rojo blanco, y con pulso firme llevó el hierro humeante, a la picadura. Manteniéndolas fuertemente sobre la misma hasta que el terrible dolor producido por la cauterización le obligó a soltar las tenazas, que cayeron enrojecidas, no ya por el fuego, sino por la sangre de la llaga que acababa de abrir. El carretero pidió por señas que le diesen un vaso de agua, que tomó con avidez de manos de Mélie. - Gracias,-le dijo, dando un suspiro de alivio, y como hablando para si agregó, contemplando su brazo, que había envuelto con un pañuelo. Ahora ya no hay peligro. -¿Lo hubo ,pues?- dijo la muchacha, que todavía no se había percatado de la gravedad del accidente. -¿Usted no había visto que la mosca que me había picado era una mosca carbuncosa?, un animal de carroña. A un hermano mío, le picó una de esas moscas, y al cabo de diez horas estaba muerto y tan negro como el paño que hubiese cubierto mañana mi cuerpo si no hubiera tomado mis precauciones.”

b) Carbunco digestivo. Sebe a la ingesta de carne poco cocinada. Es poco frecuente. Algunos casos son orofaríngeos, descritos por primera vez en Argentina; aparecen úlceras en la boca o en amígdala, que causa angina necrosante bilateral con adenopatía, disfagia indolora con cuadro tóxico y alta letalidad. Fue descrita por vez primera en la Argentina. Es forma frecuente en el cerdo. Cuando la bacteria penetra en el estómago, se inflama este de forma aguda, sus pliegues se edematizan y la mucosa

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

está sembrada de ulceraciones serpiginosas sangrantes, por lo que hay hematemesis, exudación gástrica que produce deshidratación y fiebre.

El carbunco intestinal, infrecuente en el hombre, es la forma habitual en los animales, que no desarrollan la cutánea. En Europa es la causa de menos del 1% de los casos. En cambio en Indonesia (Boer y Djanpedin) es frecuente. La enfermedad está caracterizada por una violenta gastroenteritis con vómitos y deposiciones hemorrágicas y rápido desarrollo de ascitis. Virgilio observó el contagio del hombre por comer carne de animales enfermos.;

La incubación puede ser de unas horas a 3 y hasta 5 días. Puede comenzar con afectación de la garganta con intenso dolor en la garganta, úlceras en las amígdalas, fiebre edema o linfangitis del cuello que pueden causar disfagia y dificultad respiratoria..

Se inicia con un cuadro subfebril, escalofrío, cefalea, astenia, postración, dolores intestinales generalizados pero con mayor intensidad en la fosa ilíaca derecha, con náuseas, vómitos profusos y diarrea, que puede ser sanguinolenta o coleriforme con pérdida de hasta doce litros de líquido (si se rehidrata) al día, lo que causa masiva melena y hematemesis. La temperatura se eleva a 40°C en forma continua o en accesos aumentando el dolor abdominal. Hay ascitis intensa y hemorrágica, y edema escrotal que puede ascender al tronco. El abdomen está tenso y mate a la percusión, sobre todo en la fosa ilíaca derecha, haciendo pensar en peritonitis. Puede aparecer el signo de Picks, consistente en hemorragias conjuntivales.

Las lesiones son úlceras necróticas de diámetro superior a los 5 cm, localizadas en el ciego, en el estómago y sobre todo en la región ileoterminal, es decir se producen varias pústulas malignas en cuyo entorno se produce un masivo edema de mucosa, en cuyo centro está la escara, que puede constreñir el intestino delgado estando las asas llenas con varios litros de líquido.

Los ganglios mesentéricos de la zona están engrosados y hemorrágicos, pudiendo quedar en ellos las bacterias. Los microorganismos pueden causar septicemias y tromboflebitis mesentérica. A veces hay adenopatía y edemas submentoniano y cervical. La evolución es imprevisible; en unos casos al cabo de 3 a 4

días de alta gravedad, el proceso puede ir mejorando hasta la curación total. Más a menudo, en ausencia de tratamiento, se agrava y aparecen peritonitis o septicemia, cuadros nerviosos, insuficiencia renal, colapso y muerte. La muerte se produce, en la mayoría de los casos como en el cólera, por deshidratación.

El vehículo habitual del carbunco digestivo es la carne o las vísceras poco cocinadas y la leche, si se sigue produciendo; estos productos que pueden contener la bacteridia en forma vegetativa, pero es poco frecuente que tengan esporas, salvo tal vez en la parte externa en contacto con el aire. También puede producirse por agua contaminada. La salazón, la cocción, el asado y los jugos digestivos, destruyen a la forma vegetativa, lo que explica que los pobres que comen carne de animales enfermos o los que consumían corderos enfermos, procedentes de los campos de la Beaucé cuando había carbunco, no enfermaran o que tuvieran la forma cutánea y no la intestinal. En cambio la espora resiste a esos tratamientos. Se han encontrado esporas a los 8 meses de haber sido confeccionado un embutido. Para algunos, el carbunco intestinal sería una variante de la forma septicémica. Sin embargo, es clara la relación con la ingesta.

Para que se produzca la enfermedad, se necesita haber ingerido un gran número de esporas. Loeffler encontró que la ingesta de un número pequeño de esporas no suele provocar la enfermedad. Opperman concretó en 33.000 las esporas necesarias para producir la enfermedad por vía oral.

Es muy importante que haya una puerta de entrada digestiva. Chamberland y Pasteur vieron que corderos alimentados con forraje impregnado con cultivos de la bacteridia, rara vez enfermaban, pero que lo hacían fácilmente si se añadía al pienso cardos o barbas de espigas. Los animales osteófagos se contagian más fácilmente.

La enfermedad puede aparecer en forma de brotes en personas que han consumido el alimento contaminado como cualquier toxiinfección alimentarla. Por ejemplo, tenemos el siguiente episodio ocurrido en un poblado de colonización Guadiana del Caudillo del municipio pacense. Entre los días 1 y 19 de septiembre de 1972 enfermaron treinta personas y fallecieron 3 muchachos de 15 a 17 años, con un cuadro gastrointestinal fulminante, habiéndose encontrado en el líquido ascítico de uno de ellos

B. anthracis. En la encuesta epidemiológica se comprobó que el dueño de una pequeña chacinería, su esposa y un hijo habían padecido previamente una pústula maligna contagiada, sin duda por contacto con carne de cabra que había adquirido en la primera quincena de septiembre de 1972, sin control sanitario alguno ni constarle la procedencia de dichas carnes. Parte de la carne fue vendida como tal sin que produjera carbunco en los consumidores y parte la mezcló con carne de cerdo para hacer chorizos que habían comido los afectados. Curiosamente la Voz de Galicia del día 27 de septiembre de 1972 denominaba al proceso “antracosis”. Se intervinieron los embutidos elaborados en dicha chacinería, en los que se encontró el *Bacillus anthracis*, se informó al juzgado poniendo a su disposición las existencias y comunicándosele por considerar que había indicios racionales de delito contra la salud pública. El fiscal solicitó para el carnicero 16 años de reclusión, más multa e indemnizaciones y la acusación privada 18 años y cuatro meses de cárcel, más una indemnización de cuatrocientas mil pesetas a los familiares de cada víctimas, por delito contra la salud pública mientras que la defensa pidió la absolución o, condena de seis meses, de arresto por una infracción múltiple. La Audiencia de Badajoz condenó al carnicero a seis años de prisión por imprudencia temeraria y a una indemnización de 900.000 pesetas a los herederos de cada uno de los tres fallecidos y 26.000, y dos indemnizaciones de seis mil pesetas a tres afectados. La sentencia fue confirmada el 4 de mayo de 1974 por el Tribunal Supremo. El carbunco intestinal puede dar pequeñas epidemias. En 1979 se produjo una gran epidemia de carbunco (y peste) en la antaño floreciente región de Kompong Speu en Camboya por haber comido carne de animal enfermo, hecho explicable dada la hambruna en que vivía el pueblo sometido a los jemerres rojos que desde 1975 a 1979, asesinaron a 150.000 personas y obligaron a destruir los edificios modernos, incluidos los hospitales, pues los consideraban como pertenecientes a una «época moderna» imposible de ser aceptada por una sociedad «gloriosa e igualitaria».

c) El Carbunco del endometrio es excepcional. Se han señalado algunos casos por dar a luz en establos o por abortos. Pese a los antibióticos, el pronóstico es infausto, muriendo en 24 a 36 horas por hemorragias cerebrales.

d) La carbuncosis pulmonar es poco frecuente. Se debe a la entrada por vía aérea de esporas que son captadas por los macrófagos alveolares que las transportan a los ganglios traqueobronquiales en donde germinan y liberan sus toxinas causando linfadenopatía hiliar masiva y edema hemorrágico. La clínica puede ir desde un cuadro insidioso pseudogripal a una broncoalveolitis difusa con engrosamientos pleurales con hipoxia, disnea dolor torácico, estado grave con hipotensión, shock y hemorragias al cabo de unos días. El diagnóstico solo se hace si se sospecha la posibilidad de infección con anthracis pues la clínica es inespecífica y solo la dilatación radiológica del mediastino causada por la hemorragia o la coincidencia de derrame pleural o la de meningitis puede hacer sospechar el diagnóstico

Como la exposición suele ser continua, es difícil delimitar el período de incubación, aunque parece ser menor que en la forma cutánea, entre 1 a 5 días, pero a veces ha llegado hasta los 60 días. El cuadro clínico suele aparecer de modo brusco, aunque a veces está precedido unos días antes por un cuadro catarral o bronquial con malestar, fatiga, cefalea, mialgia y fiebre. Aparecen escalofríos, la fiebre se eleva, vómitos, tos con expectoración, a veces abundante y hemoptoica, que contiene numerosos bacilos y a veces opresión torácica. Al cabo de una hora o de unos días, periodo en el que puede aparecer una discreta mejoría, el cuadro se agrava con síntomas neumónicos, con disnea intensa, estridor, cianosis, pulso débil, filiforme y taquicárdico, aumenta el dolor torácico debido al edema de torax y de cuello. El distress respiratorio es seguido de sepsis y a menudo de meningitis hemorrágica y rápidamente pasa a shock y a coma produciéndose la muerte al cabo de 24 a 36 horas, en casi todos los casos. pese a los tratamientos aplicados, s. Hay casos fulminantes con fiebre elevada, escalofríos, disnea, colapso vascular y muerte en 48 horas. El hemocultivo suele ser positivo. No hay lesiones en el pulmón ni en los bronquios, pues los bacilos quedaron en los ganglios. En la autopsia puede encontrarse, en las vías respiratorias una pústula maligna, pero en general lo que hay es un edema muy extenso de los pulmones con condensación o bien una extensa hemorragia alveolar (Kohut y cols.1964). El pulmón, hepatizado, puede presentar focos metastásicos como consecuencia de émbolos sépticos. Hay engrosamientos pleurales con derrame serosanguinolento. El mediastino

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

está en todos los casos ensanchado de modo precoz, pero a diferencia de otras mediastinitis no hay dolor. Se producen infiltrados pulmonares por edema y hemorragia.

La radiografía muestra un enorme ensanchamiento del hilio debido a una masiva hipertrofia de los ganglios hiliares, al edema y a la hemorragia del mediastino, que van seguidos de ensanchamiento mediastínico masivo con bordes netos. Puede haber efusiones pleurales, linfadenia, hipertrofia de ganglios axilares y esplenomegalia dolorosa por la septicemia, que suele ser fatal y hemorragias y edema difusos.

Epidemiología del carbunco respiratorio. El proceso se produce por la inhalación de esporas. Turnbull y cols. (1998) vieron que el viento llevaba esporas de los campos malditos al menos a 20 m de donde se habían enterrado animales muertos por carbunco pero a muy baja concentración de modo que no se produce la enfermedad en los que transitan por esos lugares. El polvo que transmite es el formado en los locales en los que se trabaja con pieles, cuero crines, lanas o productos contaminados con sangre. Es posible que los bacilos inhalados produzcan la enfermedad. El proceso afecta a trabajadores con productos procedentes de animales que tuvieron carbunco sin tener contacto con animales. como peleteros, boteros, guanteros, guarnicioneros, traperos, colchoneros, cardadores de lana y cepilleros. Es la enfermedad de Voolsorter, la enfermedad de los cardadores de lana de Inglaterra, la de los traperos de Viena, la de los clasificadores de lana etc. Constituyó un problema grave en el siglo XIX en la industria textil, tanería, etc. Aún recientemente era problema en Irán en los que tejedores de alfombras.

Curiosamente se señaló que la incidencia era mayor en las fábricas bien ventiladas, pues las esporas quedan suspendidas más tiempo en el aire. Olser señaló mayor riesgo cuanto menos grasa tuviera la lana. La baja incidencia se debe a que se inhalaban menos esporas que la dosis mínima infectante. Dahlgren y cols. (1966) demostraron en una industria americana que los trabajadores inhalaban diariamente en una jornada de 8 horas entre 620 y 2.200 partículas de polvo con esporas, de las que entre 140 y 690 tenían un tamaño inferior a 5 micras, por lo que podían llegar al alvéolo sin que sufrieran la enfermedad. La cuarta parte de los cueros importados en Liverpool, en 1958, tenían esporas y, sin

embargo, no se daban casos en los trabajadores. Brachman y cols. (1958) vieron que se podían inhalar en la industria textil mas de 1.400 esporas durante 5 horas sin sufrir la infección. En cambio, una secretaria que trabajaba en un edificio cercano a un taller textil en el que no penetraban esporas, murió de carbunco pulmonar. Es muy posible que la poca frecuencia del proceso se deba también al desarrollo de una respuesta inmune. El 23 % de 72 trabajadores de una industria que utilizaba el pelo de cabra como materia prima tenía anticuerpos, lo cual indicaba que habían sido infectados de modo subclínico.

Se han encontrado esporas en la nariz y en la garganta de personas asintomáticas (Carr y Rew). Es posible que se trate de una región con resistencia local intensa. Las esporas pueden penetrar en el alvéolo, en donde los captan los macrófagos que los llevan a los ganglios regionales. Las esporas pueden quedar retenidos en el pulmón largo tiempo. Gochenour y cols. vieron que las esporas permanecieron en los pulmones del mono expuesto durante 55 a 84 días. No hay entrada por tráquea o bronquios, pues las lesiones que a veces presentan son secundarias a las pulmonares.

Los animales no padecen espontáneamente carbunco pulmonar Experimentalmente se ha logrado en *Cynomolgus* y en *Rhesus*. Bradman y cols. (1966) introdujeron a 91 monos en una jaula que recibía el aire de un taller, donde se trabajaba con pelo de cabra, muriendo el 25,3 % con neumonía, edema mediastínico, linfangitis hemorrágica al cabo de 5 a 17 días de comenzada la exposición. El cavia que inhala esporas de una cepa virulenta muere en 36 a 48 horas, El conejo blanca de Nueva Zelanda, es muy sensible a los aerosoles de esporas a dosis letales, encontrándose el microorganismo en grandes cantidades en el bazo, ganglios, pulmones, tracto gastrointestinal, y en las suprarrenales muriendo el animal con hemorragias y edemas. (Zauchy y cols. 1998)

SEPTICEMIA. La forma habitual en los herbívoros es la septicemia primaria. En los enfermos puede haber bacteriemia episódica con fiebre y escalofríos, pero puede presentarse una septicemia secundaria a una pústula maligna y más a un edema maligno y sobre todo en las formas gastrointestinal y pulmonar, de las que al menos la mitad,

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

desarrolla sepsis, debido a un descenso de la resistencia. Hay fiebre alta en torno a los 40°C, casi continua, escalofríos violentos y repetidos, taquicardia, vómitos, diarrea que alterna con estreñimiento, cefalea casi inicial y persistente, oliguria, albuminuria y disnea con ligera cianosis, trastornos nerviosos y mentales con delirio. El hemocultivo es siempre positivo, pues hay más microorganismos que hematíes. Hay bacteridemia en todos los órganos, sobre todo en el bazo, que está hipertrofiado hay bacilos en los sinusoides hepáticos y en las células de Kupfer. Hay también hipertrofia ganglionar, La sangre está negruzca e incoagulable, tal vez por agotamiento de los factores de la coagulación, por CID con hemorragias en el riñón, suprarrenales, bazo, cerebro, meninges, y en la piel (púrpuras). Hay leucocitosis, de 30.000 a 40.000 leucocitos. Secundariamente a la septicemia puede haber una bronconeumonía hemorrágica. La letalidad es muy alta, muriendo los enfermos por fallo renal por necrosis papilar en 4-5 días pero a veces antes de 24 horas. El Rey Lear en la escena IV del segundo acto increpa a su perversa hija Gonerila con estas palabras:” eres un tumor, una úlcera pestífera, un hinchado carbunclo en mi sangre corrompida”

El carbunco nervioso es excepcional. Solo se han descrito unos 130 casos. Puede ser una meningitis primitiva a menudo hemorrágica por entrada transtentorial de la bacteria, pero casi siempre es secundaria al carbunco cutáneo (50%) o al pulmonar (26%) o al intestinal (5%) desde cuyas lesiones pasa la bacteridemia a sangre y desde esta a las meninges. Comienza bruscamente con cefalea intensa, vómitos, convulsiones, parálisis locomotora y del VI par, y signos piramidales y locales por compresión debido a hematomas. arteritis aguda con hemorragias diseminadas en el cortex, alteraciones mentales y delirio. Se aprecia exudado seroso o serosanguinolento o subaracnoideo. El LCR es hemorrágico, en la mayoría de los casos, por la ruptura de vasos que pueden estar trombosados, a veces xantocrómico o purulento con PMN alterados y presencia de la bacteridemia.

PATOGENIA. La enfermedad empieza cuando la bacteria entra en un organismo sensible. Los bacilos y los esporos son fagocitados por los macrófagos y estos germinan en el interior de dichas células en donde

producen su cápsula y las toxinas. En la mayoría de los casos es la espora, la que penetra, pero para producir la enfermedad debe germinar proceso que tiene lugar en unos 90 minutos. El proceso requiere oxígeno, alta humedad relativa, un mínimo de nutrientes y aunque no esencial, una temperatura relativamente alta, señales que permiten la expresión de los genes de la germinación; esto ocurre cuando entra la espora en un animal de sangre caliente. En el proceso de la germinación se degradan las macromoléculas, se excretan las sustancias específicas de la espora como el ácido dipicolínico, el calcio y péptidos. La membrana interna y el córtex desaparecen, quedando sólo la membrana externa. La pared engruesa a partir del material de la pared de la espora y se hace electrodensa; se borran las diferencias entre el cito y el nucleoplasma; aparecen en el citoplasma los ribosomas, y en el nucleoplasma, las bandas de ADN. Se reinicia el metabolismo; se sintetizan proteínas utilizando los aminoácidos procedentes de la hidrólisis de las SASP. A partir de la pared de la espora, se forma la de la nueva bacteria que emerge como Gram negativa; la bacteria aumenta de tamaño, se divide por amitosis y ya las nuevas bacterias son Gram positiva.

Para que la espora pueda germinar deben haberse producido una alteración de sus cubiertas por erosión o por calentamiento a 100°C unos minutos o por punción con una fina aguja, por radiaciones ionizantes, por pH bajo, o por sustancias con sulfhidrilos libres como el mercaptoetanol. La espora aún en criptometabolismo, se activa al reaccionar con un agente químico externo llamado germinante. Se han señalado a los iones Mn^{++} , Mg^{++} , a la glucosa a otros azúcares, a bases nitrogenadas etc. según la especie bacteriana: la L-alanina es germinante para el *B. subtilis*. El germinante activa a un receptor alostérico situado en la membrana interna que adquiere una capacidad proteolítica específica que hidroliza a una proenzima unida covalentemente a la mureina de la corteza. La enzima resultante reconoce la lactama del NAM y comienza a hidrolizar a la mureina cortical con lo que comienza a entrar agua en el protoplasto, haciendo perder al espora su refringencia, y su resistencia.

Inicialmente el metabolismo sigue siendo endógeno, sin utilizar sustratos exógenos. El 3-fosfoglicerato, que quedaba en el protoplasto, es la fuente de energía de la germinación; pasa rápidamente a 2-

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

fosfoglicérico, y este a fosfo-enol-pirúvico, liberándose fósforo para producir ATP. La germinación es ya irreversible. El dipicolinato cálcico se descompone, se pierde el ácido dipicolínico y el catión calcio pasa al cortex, donde neutraliza las cargas negativas; este hecho favorece con la contracción del cortex, la rehidratación del protoplasto y su hinchamiento; la mureina cortical se termina de hidrolizar. Las pequeñas proteínas SASPs se hidrolizan por la proteasa específica “GRP”, que estaba inactiva y sus aminoácidos se utilizan para sintetizar. Los genes de la forma vegetativa, se transcriben a ARN por medio de la ARN polimerasa.

La germinación termina cuando la espora puede captar nutrientes del exterior y metabolizarlos. Se sintetiza ADN, el protoplasto crece aún más; se apone material a la pared de la espors para formar la pared de la célula vegetativa naciente, la cual emerge por una rasgadura polar o ecuatorial, de las cubiertas.

TOXINAS. Se pensó que la enfermedad era causada por las masas de microorganismos en los capilares los cuales agotarían el oxígeno y los nutrientes. Sin embargo ya Sterne en 1959, encontró que el hígado, puede estar oscuro e hinchado, aunque sus capilares contienen pocos microorganismos y los animales inoculados mueren aún si estaban inmunizados parcialmente o tratados con dosis bajas de antibióticos que eliminan o rebajan mucho la cantidad de bacilos de la sangre. Es decir que la enfermedad no se debe directamente a las bacterias sino a las toxinas producidas por estas. Las toxinas proteicas en general, son moléculas solubles secretadas por bacterias patógenas que actúan sobre la membrana o en el citoplasma de las células blanco en cuyo caso deben modificar las propiedades de permeabilidad de la membrana para alcanzar el citoplasma. Las toxinas carbuncosas, como muchas de las toxinas de otras bacterias y de plantas tiene un dominio, el B por el que se une a la célula y el A provisto de actividad enzimática y por ello tóxica. La mayoría de las toxinas proteicas adoptan una de estas dos estructuras incompatibles entre sí; una, con la estructura que presentan la mayoría de las proteínas de membrana, es decir hélices alfa hidrofóbicas y anfipáticas. La otra posibilidad es la de tener numerosas estructuras beta

capaces de combinarse con componentes de la membrana por oligomerización generando la suficiente hidrofobicidad para insertarse en la membrana y perforar la bicapa lipídica como hacen las porinas bacterianas; es la estructura que tiene toxina alfa estafilocócica, la protoxina antigénica protectora del carbunco, el antígeno protector soluble heptamérico de la bacteria, la protoxina CytB, la protoxina antigénica protectora del carbunco, y el antígeno protector soluble heptamérico de la bacteria.

El bacilo carbuncoso sintetiza y excreta, in vitro e in vivo dos toxinas compuestas dos a dos, por tres proteínas, antigénicamente diferentes codificadas por genes plasmídicos. Los pases secuenciales de cultivos a 42,5°C, como hizo Pasteur para obtener su vacuna, elimina a unos 10 plásmidos (Mikesell y cols. 1983), Ezzeil y cols. 1985) suprimiendo la producción de PA y LF y con ello la virulencia. Las proteínas son: el antígeno protector (PA), el factor letal (LF) y el factor edema (EF).

El FACTOR EDEMA (EF) o I de 89.000 d, fue encontrado por Watson y cols. en 1947 en el líquido del edema, en el plasma y en los tejidos. Smith y Stanley, en 1955, lo extrajeron de sangre de cobaya en fase terminal. En la sepsis se encuentra, en la sangre, formando agregados, cuyas propiedades biológicas y serológicas dependen de su composición o configuración. Sargeant y cols. demostraron la identidad antigénica de las toxinas obtenidas in vitro e in vivo, pero esta mata más rápidamente y es más difícil de detectar que la obtenida in vitro, tal vez debido a los agregados. El EF no aumenta la respuesta de anticuerpos, aunque sea antigénico.

El FACTOR LETAL (LF) o LeTx o III de 90.000 daltones. Favorece el desarrollo del bacilo, ya que disminuye las defensas, con lo cual el B. anthracis invade la sangre. El LF es muy antigénico para la rata; sus anticuerpos protegen de la inyección de esporas y de toxina, aunque al cavia sólo lo protege de la toxina. El LF tiene tres dominios funcionalmente activos situados correlativamente en la estructura primaria de la proteína; el dominio de unión situado entre la Lys39 y la

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

Met242, el estabilizador entre la Leu517 a la Lys614 y el efector desde este punto a la Lys COOH-terminal. Si se inyecta a la rata una cantidad fija de PA y simultáneamente cantidades crecientes del factor letal, la rata muere tanto más rápidamente, cuanto mayor sea la cantidad de LF inyectada. En cambio, si se inyecta, a ese animal, una cantidad fija de LF a la rata y simultáneamente se inyectan cantidades crecientes de PA, disminuye la pervivencia hasta un tiempo mínimo, a partir del cual una dosis mayor de PA prolonga la vida. El LeTx es el principal responsable de la virulencia. El LeTx pasa desde la sangre al citoplasma celular en el que actúa como una zincmetaloproteasa alterando sus funciones, entre ellas la proteólisis de las proteinquinas activadas por mitógenos, claves en la transducción. Shin y cols. (1999) vieron que la adición de inhibidores (quinacrina, p-bromofenacil bromuro, manoalide, butacaina) de la fosfolipasa A2 (PLA2) inhibe la citotoxicidad de la LeTx de modo dosis-dependiente. También la inhibe la genisteína inhibidor específico de la tirosin-quinasa pero no la estaurosporina ni la H7 inhibidor de la protein-quinasa C. Esto indica papel de la fosfolipasa A2 y la de la proteinquinasa en el mecanismo de la citotoxicidad sobre los macrófagos de la toxina letal. El FL inhibe la maduración meiótica del oocito de la rana inducida por la progesterona al impedir la fosforilación y la activación de la protein-quinasa MAPK activada por mitógenos, cortando por proteólisis el extremo NH2 terminal de los MAPKK 1 y 2, que no pueden activar el MAPK, alterándose la meiosis (Duesbery y cols. 1999). No se ha encontrado en las células tratadas un marcador de apoptosis.

El ANTÍGENO PROTECTOR (PA) o factor II, fue descubierto en 1904, por Baill. Pesa 83.000 daltones. Es inmunógeno, protegiendo a la rata y al cobaya de la inoculación de esporas, pero no evita la acción de la toxina en las ratas. Es como su protoxina, un heptámero provisto de numerosas láminas beta. Dispone de cuatro dominios funcionalmente activos, uno de ellos que comienza con lisina 166 (que tiene un NH2 libre) al unirse al receptor rompe proteolíticamente al PA y juega un papel importante en la interacción con LF o EF para formar los correspondientes complejos tóxicos y forma un cauce hidrófobo para que

entren LF o EF. El dominio para el receptor, empieza en la Leu663 hasta el COOH-término. Baillie y cols. (1998) utilizaron el fago del B subtilis, el Phi 105 para obtener PA.

ACTIVIDAD DE LAS TOXINAS DEL ANTHRACIS. El PA activado es esencial en la génesis de la enfermedad. La activación, como la de las exotoxinas diftérica y la A de las pseudomonas, la hace las proteasas del organismo infectado, que cortan al PA unido al receptor específico de los macrófagos o bien libre en el suero. La proteasa con furina C-terminal (Gordon y cols. 1997), necesita que haya arginina en las posiciones -1 y -4 para poder reconocer al sustrato, al que corta en las secuencias RKKR, RQPR, y RVRR, respectivamente. Como las células furin-deficientes conservan alguna sensibilidad al PA y a la toxina diftérica es evidente que hay otras proteasas celulares capaces de activar a las toxinas. La proteasa PACE4, requiere que haya aminoácidos básicos en las posiciones 1,2, y 4 y puede reconocer RAAR y en menor grado al KR y al RR. La PACE4 está en el exterior de las células y tiene papel en la activación proteolítica de la PA. Si el PA se activó al unirse al receptor queda adherido a este un fragmento de 63 kd, al cual se unen el EF o el LF. Si se activa el PA unido al EF o al LF en el suero, al activarse se une al receptor (Brossier y cols. 2000).

Es posible que in vivo se una el PA completo a los otros dos factores y una vez formado el complejo, una proteasa sérica corte al PA uniéndose el complejo activado al receptor del macrófago. Los macrófagos pasan los complejos tóxicos PA-EF y PA-LF a los endosomas, vesícula ácida, desde donde se transloca al citoplasma de la célula blanco en donde ejercen su acción.

Los componentes aislados no pero las asociaciones de PA + EF y la de PA + LF, a concentraciones inferiores a 1 µg/ml suprimen, el estímulo que los lipopolisacáridos o el muramil-dipéptido ejercen sobre la producción de superóxido en los PMN expuestos a la N-formilmetionil-leucil-fenilalanina. El complejo PA-FL tiene la estructura de las metaloproteasas aunque no tiene actividad enzimática.

El complejo PA-FE es una adenilato ciclasa calmodulina dependiente que aumenta el AMPc y causa el edema. La asociación de la

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

EF con la LF es sinérgica aumentando la toxicidad. La toxina inhibe la fagocitosis. Ningún componente de la toxina modifica la quimiotaxis, pero la asociación de PA + EF o la de los tres componentes estimulan la quimiotaxis. El aumento de AMPc de los PMN, inhibe la fagocitosis medida por la inducción de la respuesta inmunoluminiscente y por microscopio de fases y electrónica (Ignaro y cols. 1974, 1975). La asociación PA + LF es letal para los macrófagos (Lepla y cols., 1985). El FL actúa por medio de los macrófagos, ya que su eliminación hace insensible al ratón a la LeTx.

Cuando hay bajos niveles de FL se induce la producción de macrófagos y la de las citoquinas TNF y la de la beta III que causan shock y la muerte súbita que aparece en los enfermos; sin embargo Shin y cols. (1999) no encontraron que los macrófagos del peritoneo del cavia en cultivo primario expuestos al FL sintetizan mucho óxido nítrico. Si los niveles de LF son altos, los macrófagos producen grandes cantidades de intermediarios reactivos de oxígeno, aunque el pretratamiento con antioxidantes como la melatonina o con la dehidroepiandrosterona (DHEA) no evita la citotoxicidad, ni la “explosión” de los macrófagos. Cuando hay suficiente cantidad de LeTx los antibióticos no son eficaces.

EXPRESIÓN DE LOS GENES DE VIRULENCIA. El operón del anthracis está formado por tres genes plasmídicos el cya, el lef, y los pag (el pagA codifica al PA), que clonaron Fuet y cols. (2000). son muy similares a los que tiene el operón sigB del *Bacillus subtilis*. Las secuencias nucleotídicas y el orden de sus tres genes, son muy similares a la de los ocho genes que tiene el operón del *B. subtilis*. El gen codifica un factor de transcripción, que produce el factor sigma (B) del estrés general y dos proteínas de su red regulatoria la RsbV y la RsbW. regulado por un promotor.

Un mismo gene regulador, el regulón (gen cuya misión es optimizar la producción de las enzimas que participan en el crecimiento y en metabolizar sustratos no preferentes), el atxA. (que también tiene la *E. coli*) situado en el plásmido residente pXO1 de 185-kb. Activa en trans al atxA. Vodkin y cols. (1983) vieron que una cepa curada disminuye, al menos 2.500 veces la producción de PA. La clonación de un fragmento

de 6 kb del plásmido p_{xol} por medio del vector EpBR322 hace que la bacteria clonada produzca PA pero la produce en mucha mayor cantidad si se clona en un *Bacillus* que si se hace en la *E. coli*. El *atxA* no se activa por el nivel de la relación CO₂/bicarbonato pero en medios cuya tasa de CO₂/bicarbonato es alta sextuplica su expresión al pasar de 28 a 37°C (Dai y cols. 1997). El gen *AtxA* se expresa por una proteína de 53 kD, que regula a los tres genes que codifican las toxinas y al menos la de un gene necesario para la síntesis de la cápsula. La mutante *atxA* nulo exhibe fenotipos no relacionados con la síntesis de la toxina y de la cápsula que crece pobremente en medios mínimos, pero en cambio esporula más eficientemente que la cepa original (Hoffmater y cols.1999).

El gen *atxA* activa al gen *pagA* que codifica el PA el cual se cotranscribe con un gen de 300bp gene, el *pagR*, codificador de una proteína que tiene algunas secuencias similares a las de los genes reguladores de otros microorganismos. Sin embargo el aumento del número de copias de *AtxA* no aumenta la activación de los *pag*, lo que sugiere que existe, al menos, otro factor regulador del *pag* y que las proporciones es relativas de semejante factor(s) y *AtxA* son importantes para la expresión óptima del gen de toxina óptima.

El *pagR* reprime la expresión del *pagA*, del *atxA* y controla la expresión de varios genes. Un anti-*AtxA*(His) obtenido inyectando a animales con *AtxA* procedente de la *E.coli* permite descubrir el *AtxA* del anthracis.

El EF se codifica en forma inactiva por un gen procedente según Lepola y cols. (1985), de células eucariotas. El EF activo, solo o con el PA, al unirse a un receptor de la superficie celular, activa a la adenilciclase Ca²⁺/calmodulindependiente que produce AMPc y calmodulina; solo la toxina de la *B. pertussis* activa también a la adenilciclase.

Price y cols. (1999) identificaron cinco mutaciones puntuales, tres sinónimas y dos sin sentido. La ingeniería genética ha logrado, por intercambio de mutaciones puntuales de los genes de los componentes de las toxinas o por delecciones, modificaciones de la LF metaloproteasa, de la actividad adenilato ciclase de la EF o de los dominios funcionales de la PA.

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

SUSCEPTIBILIDAD Hay una inmunidad de especie que hace que los animales no sean susceptibles a la enfermedad. Hay inmunidad natural debida a la fagocitosis por los PMN (los macrófagos, actúan en la patogenia). Todo lo que disminuya la fagocitosis favorece la presentación de la enfermedad. La cápsula impide la fagocitosis y por eso las cepas acapsuladas no provocan la enfermedad. Pasteur hizo a las gallinas susceptibles sumergiendo sus patas en agua fría que disminuye la fagocitosis. Al menos en los ratones las deficiencias del C5 del complemento disminuyen la resistencia.

Los linfocitos T citotóxicos (CTL) reconocen a los antígenos derivados de proteínas expresadas endogenamente o presentadas en la superficie celular dentro del complejo del antígeno mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I. Como los CTL son antivíricos y antitumorales es importante lograr su estímulo. Las proteínas exógenas no suelen estimular a los CTL porque esos antígenos siguen la vía de las MHC de clase II. Varias toxinas se translocan es decir cambian de MHC en el citosol en donde se realiza su citotoxicidad. El conocimiento de estas toxinas y de sus dominios permitirá producir proteínas modificadas, incluso haciéndolas portadoras de otros antígenos que no sean tóxicas pero que retengan la capacidad de translocarse en citosol.

DIAGNÓSTICO

Las técnicas microbiológicas clásicas son: la tinción de productos de la pústula maligna y un Giemsa o un Gram reforzado en extensiones de sangre en las formas pulmonar, gastrointestinal o septicémica.

Cultivo de muestras, especialmente de sangre. Los medios ordinarios no suelen permitir el crecimiento, siendo el mejor medio la sangre de bóvidos a 37°C.. Ya se observa el crecimiento a las 6-24 horas. La forma de las colonias y la inoculación por picadura dan una segura pista pero para ello debe estar alertado el laboratorio para emplear medios específicos.

Es mejor que el cultivo la inoculación de muestras con esporas o bacterias a animales de laboratorio especialmente a ratones y cobayas. Si

el material está contaminado como tejidos en putrefacción, la tierra o el polvo se puede tratar con detergentes, que además desengrasan; la escarificación es la mejor vía para material contaminado, pues el anthracis penetra más fácilmente que otros microorganismos. A los animales se les puede inyectar previamente suero contra clostridium formadores de gas como el welchii, el septicum y el oedematiens. Si el inóculo contiene anthracis, los animales mueren en 2-3 días; su bazo está hipertrofiado y oscuro con muchísimas bacterias en sangre y vísceras; si los animales no mueren se clasifica la bacteria como *B. cereus* o *B. anthracis* similis.

La serología permite hacer el diagnóstico retrospectivo. En el 80 % de los casos cutáneos y orofaríngeos se encuentran anticuerpos. Baltenau y cols. aplicaron la intradermorreacción para hacer el diagnóstico varios años después de la infección, inyectando líquido del edema provocado en el conejo o en el cavia; la respuesta es tanto más fuerte cuanto más antigua fuera la lesión carbuncosa. Las personas Mantoux positivas dan una respuesta positiva débil. Los científicos rusos obtuvieron un antígeno de la anthracina utilizable para la prueba intradérmica.

La búsqueda de la bacteridia en el suelo requiere usar las técnicas bacteriológicas usando la serología, la aglutinación, la inmunofluorescencia y la inmunoradiometría indirecta permiten diferenciar al *B. anthracis* del *cereus* común en la tierra. La reacción miostagmínica o termoprecipitación de Ascoli se ha usado para determinar la contaminación de pieles u otros productos biológicos, incluso putrefactos. Se adiciona en un tubo de precipitados, 0,5 ml de solución de precipitinas contra la bacteridia a 0,5 ml de SS en la que se suspende triturado de los órganos, hervido durante cinco minutos y filtrado en caliente y dejado enfriar. Se dejan en contacto diez minutos a temperatura ambiente; en caso positivo de forma un anillo en la unión de los dos reactivos.

Para determinar la contaminación con esporas en caso de agresión, se deben tomar muestras de las fosas nasales, de la cara y del cuero cabelludo, lugares en los que se deposita el mayor número de esporas según encontraron Granice y cols. (1999), en monos que expusieron a un aerosol con esporas.

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

Es importante disponer de pruebas rápidas dada la urgencia de instaurar inmediatamente un tratamiento eficaz, cuando se sospecha que el aire contiene esporas de carbunco o que ya ha entrado en las vías respiratoria o digestiva, pues en su defecto hay que tratar a los afectados ante la menor sospecha. Ramisse y cols. 1999 evaluaron la distribución de la secuencia Ba813 del ADN del cromosoma presente en las especies de *Bacillus*. La Ba813 estaba sistemáticamente en 47 cepas de *B. anthracis*, y solo en el 5% de 60 cepas de *Bacillus* no *anthracis* (tres *cereus* y un *thuringiensis*), aunque también se encontró el marcador en *Bacillus* sp. aislados que eran abundantes en suelo de lugares en donde habían ocurrido brotes de carbunco. La PCR puede detectar genes plasmídicos de la bacteria y de la spora y amplicones. La PCR-ELISA permiten reconocer al *Bacillus anthracis* del suelo usando placas recubiertas de streptavidina y con nucleótidos. Su sensibilidad es de 100 fg de ADN es decir menos de 10 esporas por 100 g de tierra. La inmunofluorescencia directa, tratando el material con globulina anticarbuncosa fluorescente, permite demostrar en diez minutos la presencia de la bacteria. y fluorescencia permite diagnosticar en diez minutos la presencia de *B. anthracis*. El ELISA enzimático es otra posibilidad. Prometedora es la cromatografía rápida con anticuerpos monoclonales frente a diversos posibles agresivos biológicos (Hand Held Test Kit). Hay un sistema a base de laser transportado por el aire que detecta las nieblas biológicas capaz de analizar y medir el contenido en ADN y en ATP e identificar con inmunoanálisis el microorganismo. Estos dispositivos se pueden instalar en vehículos y hasta en aviones no tripulados. Debe haber médicos centinela capaces de identificar rápidamente los primeros casos de enfermedades que pueden ser consecuencia de agresiones.

Al tomar las muestras y al manejar cultivos o animales inoculados etc., los laborantes deben protegerse para evitar el contagio y la dispersión de la bacteria que esporulará en el medio.

PREVENCIÓN

En los animales, la prevención se rige por los artículos 229-235 del Reglamento de epizootias. España está exenta de carbunco animal, lo

cual no quiere decir que esté erradicado el proceso. Curiosamente, Jones (J Appl Microbiol. 87: 189:1999) decía que el carbunco sigue siendo problema en ESPAÑA, Grecia, Turquía, Albania y Rumania. Si aparecieran casos en animales deben declararse a la autoridad sanitaria, por medio del veterinario y hacer la encuesta epidemiológica, investigando los establos, corrales, encerraderos, pastos y terrenos en donde hayan estado animales enfermos.

Es básico, delimitar los focos enzoóticos, cercandolos si es posible, impidiendo que pasten en él los animales salvo tal vez los équidos más resistentes vacunados. Los animales enfermos y los sospechosos de estarlo deben aislarse por separado y vigilarlos tomando la temperatura rectal inmediatamente antes del ordeño, aislando a los febriles y esterilizando, en todo caso, su leche y debe investigarse si los animales que hayan muerto de forma súbita o inexplicada han podido tener carbunco.

Las cuadras, mataderos, etc., en donde hayan estado animales enfermos, deben desinfectarse; la paja, el estiércol, las vendas y textiles que los hayan tocado animales enfermos deben ser quemados en el propio establo, si no representa riesgo de incendio, antes de la desinfección, para evitar que la materia orgánica inhiba a los desinfectantes. Los desinfectantes útiles son los oxidantes como los hipocloritos o el formol. En la isla de Gruinard, contaminada intencionadamente en la Segunda Guerra Mundial, se trataron unas 4,1 hectáreas (el 2 % de la superficie total) con formol al 5 % disuelto en agua de mar.

Se deben sacrificar a los animales enfermos sin abrirlos para evitar la salida de la bacteria. En Inglaterra está penado abrir los cadáveres de esta enfermedad. Los cadáveres deben incinerarse o saponificarse, y, si no es posible, se les debe enterrar a más de 2 m de profundidad, cubriéndolos con cal viva y, en su defecto, con aceite, en lugares donde no se produzca contaminación del agua ni puedan ser sacados por los animales carroñeros. Si algún animal ha sido enterrado superficialmente, debe sacarse y enterrarse profundamente con las precauciones dichas. El mismo tratamiento debe hacerse en las carcasas y otros restos.

La carne no debe ser aprovechada en ningún caso. Solo los cerdos que padecen una forma limitada de carbunco en los ganglios

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

mesentéricos, se podrá utilizar su carne y vísceras, en las que la bacteria está ausente, previamente higienizadas.

El Reglamento Español de epizootias considera extinguido un foco cuando no han ocurrido casos durante 15 días después del último presentado, norma que sólo es válida si no se produjo contaminación del suelo. En los focos enzoóticos, debe vacunarse al ganado lo antes posible, antes de que hayan transcurrido 10 días de haberse declarado la epizootia. Debe controlarse las pieles, lanas, etc., que solo deben circular si proceden de mataderos autorizados.

Debe efectuarse una vigilancia sanitaria de los animales, pieles, lanas, etc., importadas. La mayoría de los 483 casos humanos ocurridos en Estados Unidos, entre 1945 y 1955, se debieron a materias contumaces importadas sin tratar. Los anglosajones llaman wet-hides (cuero mojado) a los animales sacrificados presumiblemente sanos y dry-hides (cueros secos) para los que han muerto por enfermedad, a veces por carbunco. En 1921 se abrió en Liverpool la primera estación paratratar las balas de lana y pelos, que persistió al menos en 1971. Las pieles se deben desinfectar manteniéndolas siete días en cubas con lechada de cal adicionada con sales arsenicales o con el método de Seimour-Jones con sublimado y ácido fórmico, o con el de Schttfroch a base de clorhídrico diluido, técnicas que no alteran el curtido. También pueden tratarse con vapores de formol o inmersión en formalina o con hipoclorito. La beta-propiolactona es un buen esporulicida, pero es cancerígeno. Mejor resultado daría el óxido de etileno que destruye las esporas. La depilación con sulfitos y sales arsenicales es también un método aplicable. En algunos lugares, como Melbourne, se aplican radiaciones ionizantes usando una fuente de cobalto 60, que produce 150.000 Ci.

Las lanas, crines y pelos se pueden esterilizar una vez lavadas durante 10 minutos en carbonato sódico al 0,27 % a 40°C. Se escurren con rodillos y se lavan nuevamente durante 10 minutos con una solución al 6,6 % a 40° C se escurren de nuevo y se pasan dos veces a un baño de formol al 2 % a 40°C se enjuagan con agua fría durante 3 minutos y se secan en el horno a 120°C durante 7 minutos, sacándolos en seguida para evitar que se chamusquen.

También se pueden esterilizar en la autoclave a 120°C durante 3 horas, pero este tratamiento estropea mucho el material. La harina de carne y huesos «verdes» deben someterse a 150°C.

Los animales enfermos pierden rápidamente su secreción láctea, pero los bacilos y las esporas pueden contaminar a otros animales. La esterilización de la leche destruye las esporas (la pasteurización solo a la forma vegetativa).

Se debe impartir la adecuada educación sanitaria del personal que, por razones profesionales, está en riesgo sobre el modo de manejar los materiales y en todo caso debe trabajar protegido con mascarilla, guantes y mono cuidando especialmente que no se contaminen las heridas que pudieran existir. Los locales en los que haya animales enfermos y en las industrias que manejen productos animales que pudieran contener esporas o en los que se ha manejado esporos o se han contaminado con fines terroristas deben ser desinfectados con hipoclorito usando lejía comercial 5 g de cloro por litro distribuida por personal competente y protegido, especialmente los ojos, dada la toxicidad de este producto.

Estos locales deben ventilarse con presión negativa y captación de polvo, su suelo y paredes deben ser fácilmente lavables y deben disponer de lavabos y duchas en número suficiente y los trabajadores emplearlas después de la jornada.

La desinfección de los locales en donde haya habido animales enfermos, afectados, la destrucción de los animales enfermos y del material contaminado y la aplicación de medidas sanitarias apropiadas en los mataderos y fábricas lecheras garantizarán la inocuidad de los productos de origen animal destinados al consumo humano.

Si hay un caso humano debe hacerse la declaración de la enfermedad con comunicación al veterinario. Se debe establecer un aislamiento relativo, pues no se produce la transmisión de hombre a hombre, y evitar la contaminación del personal y la entrada de artrópodos. El tratamiento disminuye el tiempo de eliminación de los microorganismos.

El carbunco es una enfermedad profesional. Está incluida en los Anexos de los Decretos de Enfermedades Profesionales de 1947 y 1961. Por ello, el empresario debe comunicar antes de 10 días a la Inspección

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

Provincial del Trabajo la baja del operario, y el médico de empresa lo ha de hacer a la Caja Nacional de Accidentes del Trabajo y Enfermedades Profesionales. La Reglamentación Nacional del Trabajo en Curtidos de 1946 estableció medidas para sus afiliados.

La Orden Ministerial del 12-1-1963 de Trabajo que establece las normas para el reconocimiento, diagnóstico y calificación de enfermedades profesionales, dice que el carbunco, da derecho a reparación por el seguro cuando haya sido adquirido por contacto durante el trabajo con animales enfermos o sus cadáveres, manipulación de sus restos, comercio y manufactura de pelos, lanas y pieles, sea cual fuere el cuadro clínico. En las normas figura el examen de pieles o pelo, por la reacción de Ascoli en tenerías y fábricas de brochas y pinceles, donde haya habido algún caso. El Código Zoosanitario Internacional considera que el carbunco debe ser de declaración obligatoria y que para la exportación de rumiantes, équidos y cerdos y sus productos se debe exigir el Certificado veterinario internacional que esos animales o los animales de los que proceden sus productos, no tenían síntomas durante los 20 días anteriores, que procedían de explotaciones estaba libre de la enfermedad durante 20 días y que habían sido vacunados antes de 20 días y menos de 6 meses

VACUNA. La inmunización debe proteger de las proteínas que intervienen en la germinación de la espora e incluso contra proteínas estructurales, y de forma especial contra el PA, que provoca inmunidad antitóxica a la que contribuyen en menor grado, los factores letal y el del edema como lo confirmaron Tvins y cols. (1966) en cepas carentes del plásmido pXO1 o del pXO2. Brossier y cols. 2000 encontraron que el complejo LF-PA es necesario y suficiente para que se produzca una buena respuesta de anticuerpos contra el LF, sin que se necesite que el LF esté activado, ni unido a la superficie de la bacteria. Hay que tener en cuenta que los anticuerpos antitóxicos no tienen efecto sobre las bacterias capsuladas.

Se dispone de tres vacunas muertas que reducen en un 80% el riesgo en los vacunados frente a la inoculación de la bacteria, sea cual fuere la vía de administración de las vacunas, que causando cinco veces

mas reacciones adversas, aunque de pequeña importancia, respecto a los animales a los que se administró placebo. Es posible que se haya desarrollado con fines de agresión variantes frente a las cuales no protegen las vacunas actuales. A esto atribuyen algunos que en USA no se vacuna a la población pero pienso que sería una medida desmesurada.

Al parecer fue Henri Toussaint quien obtuvo la primera vacuna, con bacteridia atenuada, pero difundió poco su descubrimiento; le corresponde a Louis Pasteur el honor de haber obtenido la primera vacuna que fue la antiebrucosa, en 1881 a base de una cepa virulenta, capsulada anesporulada, atenuada por el calor. La primera inoculación la hacía con cultivos de 48 horas. La dosis para las vacas era 0,25 ml y para las ovejas, 0,15 ml. Pasteur vacunó por primera vez a 48 ovejas, 2 cabras y varias vacas en la granja de «Puilley le Fort», en 1881, ante la Sociedad Agrícola de Melun. Esta vacuna fue ensayada por Gregorio Arroz, veterinario de Obanos (Navarra), al año siguiente. La vacuna protegía, pero si la atenuación era insuficiente, mataba al animal y aumentaba la diseminación del proceso, y si era excesiva, no inmunizaba. Soberheim aumentó la seguridad adicionando a la segunda dosis suero antiebrucoso. En 1920 se empezó a vacunar tímidamente con la vacuna Pasteur, y en 1927 se sustituyó la vacuna Pasteur por la cepa atenuada 34 F2, llegando en 1950 a tener vacunados al 96,2% de las cabras y ovejas de Francia. Desde 1950 no ha habido ningún caso humano y desde 1968 ninguno animal. Se siguió vacunando para impedir la reaparición de casos contagiados por los suelos contaminados, pero se fue restringiendo la vacunación hasta 1973 en que se suprimió. La vacunación logró erradicar el carbunco en Chipre. En esta isla con unas 500.000 cabezas de ganado lanar y cabrío, que pastaban dispersos por la isla generalmente en lugares apartados. La enzootia que mataba anualmente unas 50.000 cabras y ovejas. La enzootia era debida al abandono de los cadáveres de los animales a los buitres y otros animales, pues enterrarlos era un trabajo pesado, ya que el suelo es rocoso. La vacuna no debe aplicarse sino 15 días después, como mínimo, de haber aplicado suero antiebrucoso.

Se han obtenido vacunas con esporos, llamadas atenuadas, por proceder de bacilos atenuados. Soberheim atenuó con suero antiebrucoso y Personeus y cols., con saponina, en su vacuna

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

Carbazoe. El Instituto Pasteur de París produjo una vacuna de esporas, para bóvidos, cuya atenuación es semejante a la de la segunda dosis de Pasteur. Las vacunas con esporas, supone manejar estas con riesgo para laborantes y el de contaminar la tierra, por lo que no deben fabricarse. El Pasteur obtuvo una vacuna de esporas procedentes de una bacteria avirulenta, válida para varias especies animales con una sola inyección de 0,50 ml para los bóvidos y 0,25 para los demás animales a partir de la tercera semana de vida y en los potros a partir de los dos meses; los animales deben quedar en reposo unos cuatro días después de la vacunación. No deben vacunarse las hembras gestantes; la vacuna produce una ligera disminución de la secreción láctea. La vacuna más utilizada en la actualidad es una suspensión de esporas vivas de la cepa avirulenta Sterne. Una cepa isogenica con la anterior sintetiza LF y EF, atóxicos es un candidato seguro (2001) para ser usado como vacuna. Se han obtenido vacunas recombinantes para poner una sola dosis transformando las cepas DeltaANR y la DeltaSterne, no capsuladas no toxigénicas de *Bacillus anthracis*, con cuatro diferentes plásmidos recombinantes que expresan el PA con varias intensidades. Su eficacia es paralela al título de anti-PA logrado. La cepa Sterne recombinante se usa para vacunar a los bóvidos. La bacteria desprovista del gen del FL no mata a animales y es tan protectora como la cepa Sterne. El *B. anthracis* que expresa un antígeno exógeno controlado por un promotor inducible in vivo produce inmunidad celular y humoral. Los científicos de la URSS usaron una vacuna a base de esporas atenuadas para animales y para el hombre vacunando por escarificación, por inyección subcutánea o por aerosol cuya actividad valoran con el anthraxin. Los trabajadores de la factoría militar de Sverdlovsk estaban protegidos con una vacuna atenuada pues Jackson y cols. (1998) recuperaron ADN de 11 trabajadores que habían fallecido en la epidemia de 1979 en el que la PCR encontró genes de la toxina y del antígeno capsular de una cepa de vacuna atenuada y de la bacteridia silvestre lo cual parece indicar que la protección fue insuficiente tal vez por la entrada masiva de esporas. Shlyakhov y cols. (1994) vacunaron a 2596 personas con una vacuna viva humana (HLAV) por vía hipodérmica por escarificación, y por aerosol que positivizó a los 2-6 días, la intradermoreacción con anthraxina, sensibilización que fue aumentando exponencialmente hasta el día 15

manteniéndose constante hasta el vigésimo día, a partir del cual disminuyó mucho la positividad tal vez por destrucción de macrófagos por el factor letal quedando positivos al cabo de un año solo el 22 al 35 %.

La vacuna a base de esporas recombinante parece ser mas eficaz que la obtenida con las formas vegetativas. Cohen y cols. (2000) obtuvieron varias vacunas con bacilos no capsulados muy atenuados capaces de formar esporas, no toxinogénicos que expresaban distintos niveles de PA recombinante (rPA), el cual conservaba las características del PA original. Una sola dosis de 5×10^7 esporas de la cepa MASC10, que expresa al menos 100 microgramos por ml de rPA, inyectados al cobaya, determina altos títulos de anti PA que persisten al menos 12 meses, protegiendo al animal de la inyección de esporas de la cepa Vollum letal. El uso de *Lactobacillus*, comensal intestinal, como vector de genes codificadores del PA, inmunógeno atóxico sería una vacuna segura administrable por vía oral, productora de IgA. Ya se ha logrado en el *Lactobacillus casei* una gran expresión intracelular del PA.

La vacuna antcarbuncosa animal se puede mezclar con la antibrucelósica. También se puede aplicar simultáneamente con la vacuna contra el carbunco bacteridiano producido por el *C. chauveii*, pero usando jeringas diferentes e inyectándola en otro lugar, para evitar que el formol de la antichauveí altere las esporas de la vacuna carbuncosa.

Schlingman y cols. obtuvieron una vacuna química a base de antígeno protector precipitado por alumbre. La vacuna clásica es el filtrado estéril exento de proteínas, del supernadante de un cultivo de la cepa V770-NP1-R (acapsulada no proteolítica) que contiene el PA y algo de los factores letal y el del edema adsorbida en hidróxido de aluminio. Beznosov y cols. (1997) extrajeron una proteína de superficie de 92 kD de bacterias vegetativas de *B. anthracis* cepa STI-1 atenuada, con 3% de lauril-sarcosilato sódico a 4°C, que purificaron por cromatografía de adsorción en hidroxipatita; inyectada con el adyuvante de Freund, en ratones blancos, reveló buenas perspectivas para su uso como vacuna química. Las vacunas químicas se emplean para proteger a profesionales muy expuestos. Se administran 0,5 ml con la pauta clásica de 0, 2, y 4 semanas repetidas a los 6, 12 y 18 meses seguida de dosis de refuerzo

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

anual mientras dure la alta exposición, pero la protección es pequeña.. Ensayos en rhesus indican que protege, pero se ignora si será eficaz ante la inhalación de esporas. En caso de agresión con esporas, después de dar la quimiopprofilaxis, se puede administrar una serie vacunal a las 0, 3 y 4 semanas, Las FAS de USA se empezaron a vacunar en 1997 con la vacuna adsorbida (AVA), que no tiene efectos adversos importantes pero que curiosamente da más reacciones locales en las mujeres. Se ha obtenido PA atóxico en el *B. subtilis* utilizable para vacunar.

Las vacunas actuales no constituyen el ideal son caras requieren repetir las dosis y pueden causar efectos colaterales transitorios en su mayoría y no protegen completamente contra todas las cepas de anthracis.

Vacunas con PA. Williamson y cols. (1999) obtuvieron una vacuna con el PA, como principal inmunógeno capaz de inducir un título, cuyo log es superior a 10^4 de IgG, la mayoría IgG1 en ratones C57B16 y Balb/c lo que indica que la respuesta se debía predominante a la Th2. La inoculación del plásmido codificador de PA al ratón Balb/c produce IgG a títulos cuyo log no supera 10; el título aumenta ligeramente con una inyección de recuerdo pero si esta inyección era de rPA, se produce un significativo y rápido aumento de la IgG. La inoculación del plásmido pudiera ser un mecanismo para aumentar la respuesta al PA. La inmunización de macacos rhesus con una sola dosis de 50 microgramos de PA recombinante con diversos adyuvantes, causó proliferación linfocitaria y anticuerpos IgG e IgM neutralizantes de la citotoxicidad con títulos máximos a las 2 y 45 semanas. A las seis semanas la exposición a aerosoles con 93 DL₅₀ de esporas virulentas demostró una protección superior al 90%. (McBride y cols. 1998)

TRATAMIENTO. El tratamiento debe ir dirigido a eliminar a la bacteria, evitar la diseminación, la sepsis y el efecto de las toxinas. Antiguamente se usaba el suero de Sclavo, cuyo efecto era piroterápico, luego el neosalvarsán que por eran ni antibacterianos ni antitóxicos. Los antibióticos sólo actúan sobre los microorganismos, sin detener el progreso de la enfermedad, ni el edema ni la toxicidad, incluido el edema una vez que se ha producido suficiente toxina por lo que debe los antibióticos deben administrarse precozmente. Está contraindicado hacer

escisiones o exéresis de las lesiones. El estado general más que el aspecto de la lesión es lo que debe guiar la terapia. Cuando hay que tratar pocos casos es mejor utilizar la vía venosa para los antibióticos. Para el carbunco cutáneo bastan pautas de diez días, pero para el carbunco pulmonar debe mantenerse 60 días. La penicilina, introducida en 1944 por Murphy y cols., bajó la letalidad de 15-20 al 0,6. Ya no son activas las dosis de 10.000 U cada 3 horas. Espectacular es la administración intravenosa por goteo de 3-5 millones de U de penicilina, repitiendo esa misma cantidad cada 4 horas durante 48 y siguiendo luego 3 o 4 días con 1.500.000 U. También es útil iniciar la terapia con la inyección intramuscular de 900.000 U de penicilina-benzatina y 300.000 U de benzilpenicilina, y seguir aplicando cada 6 horas 250.000 U de bencilpenicilina, durante 48 horas. Para los menores de 12 años 50.000 U IV por kilo de penicilina G. También puede usarse la amoxicilina. Estas pautas eliminan a los microorganismos de la pústula, pero para mayor seguridad algunos aconsejan seguir con 250 mg por vía oral 4 veces diarias durante 4-5 días más, y si había edema grave, puede asociarse una inyección diaria de terramicina retardada. En pacientes alérgicos a la penicilina o si la bacteria es resistente, deben usarse antibióticos de amplio espectro, como la doxicilina a dosis de 100 mg intravenosa dos veces al día, habiéndose demostrado su eficacia en monos. También son eficaces la eritromicina, También son eficaces la eritromicina, el cloramfenicol, la vancomicina, y varias cefalosporinas, aunque no las de la tercera generación. El tratamiento del carbunco cutáneo protege de la septicemia pero no evita la formación de la escara.

No son eficaces las cefalosporinas de tercera generación. La doxicilina a dosis de 100 mg intravenosa dos veces al día, es la mejor tetraciclina habiéndose demostrado su eficacia en monos. También son eficaces la eritromicina, a dosis de 0,5 g o más cada 4 horas, el cloramfenicol, la vancomicina, y varias cefalosporinas, aunque no las de la tercera generación. El tratamiento del carbunco cutáneo protege de la septicemia pero no evita la formación de la escara. No son eficaces las cefalosporinas de tercera generación. el cloramfenicol, la vancomicina, y varias cefalosporinas, aunque no las de la tercera generación. El tratamiento del carbunco cutáneo protege de la septicemia pero no evita la formación de la escara. El mejor antibiótico es la ciprofloxacina 400

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

mg IV cada 12 horas para mayores de 16 años y adultos. No se aconseja dar fluoroquinolonas en menores de 16 años por la posibilidad de producir artropatía permanente pero si se desconoce la sensibilidad de la cepa en cuestión a los antibióticos debe iniciarse el tratamiento con ciprofloxacino a dosis de 20-30 mg/kg/día IV en dos administraciones sin pasar de 10 g diarios. El ciprofloxacino, medicamento de elección se puede utilizar en España para tratar el carbunco pero la FDA aún no ha incluido esta enfermedad en las indicaciones de este antiótico. El tratamiento con ciprofloxacino cuesta 35.000 ptas y con penicilina 60.000 ptas. El tratamiento se completará con la rehidratación en el edema maligno y en las formas gastrointestinal y septicémica, monitorizando los líquidos y los electrolitos y en especial al iniciar los antibióticos por la liberación brusca de toxinas. Oxigenoterapia, medidas antishock y corticoides en las formas meníngeas o con gran edema. Se efectuará traqueotomía precoz antes de que aparezca el edema laríngeo, que haría difícil la operación. Como es posible que entren esporas tetánicas a través de la pústula debe hacerse la prevención de esta enfermedad.

Quimioprofilaxis. A las personas que puedan haberse contaminado con carbunco se les debe iniciar quimioprotección y hacer quimioprofilaxis (mejor sería decir quimioprevención) inmediata, pues si aparece la clínica sistémica, los antibióticos tienen poca efectividad. Puede hacerse con 300.000 U de bencilpenicilina y 900.000 U. de benzatina, o mejor con 100 mg de doxiciclina o con 500 mg de amoxicilina (si la cepa es sensible a los beta lactámicos) pero mejor es al menos iniciar la quimioprotección con ciprofloxacino o con otra fluoroquinolona pues es posible que se hayan empleado cepas resistentes a beta lactámicos y a tetraciclinas. En los niños se aconseja 20 a 30 mg por kilo en dos dosis diarias sin pasar del gramo; se le puede dar 40 mg por kg de amoxicilina si pesa menos de 20 kg y si más como los adultos. Como los antibióticos impiden que se produzca la respuesta inmune es posible que el esporo sin germinar persista al menos 60 días por lo que debe pasarse a la administración oral de antibióticos cuando sea posible durante sesenta días

PRESENTE. La GUERRA BIOLÓGICA. Mientras que el carbunco natural si se mantienen las medidas preventivas que tanto éxito ha proporcionado a la veterinaria, el carbunco podría ser considerada como una enfermedad en vía de erradicación, ha adquirido una inquietante realidad ante la eventualidad de su uso como agresivo, Ante una guerra, los sanitarios debemos en primer lugar evitar que se produzca y estar alerta por si produce una agresión. La amenaza nuclear es la más peligrosa, pero la menos probable, a la que sigue la guerra con armas convencionales. La guerra química dispone de una variada y versátil panoplia de agresivos fáciles de emplear, sin dañar los recursos. La biológica ofrece medios para extender los efectos a poblaciones no atacadas y tampoco afecta a instalaciones y bienes. Los microorganismos conocidos que se piensa pueden ser utilizados como agresivos más temidos son el virus de la viruela (de los que se conservan cepas en el Reino Unido y Rusia), las brucellas, la Francisella tularensis, la Yersinia pestis, etc que en cantidades pequeñas pueden causar efectos muy grandes, son relativamente resistentes en las condiciones de empleo. Se piensa que las esporas resistentes al medio, son fáciles de transportar y de diseminar serían candidatos para ser empleados como agresivos. Los agresivos químicos suelen buscar efectos inmediatos para romper el frente, desmoralizar al enemigo etc., mientras que los bacteriológicos requieren tiempo para actuar por lo que son menos útiles para el frente pero más utilizables contra la población civil. La contaminación del agua y aún mejor la dispersión de esporas en el aire mediante aerosoles o polvo de la talla deseada, lograda por diversos artificios. (los aspersores agrícolas originan partículas de 100 micras que caen enseguida al suelo).

El carbunco es uno de los agentes que se ha pensado desde hace mucho que pudiera ser utilizado como agresivo en una guerra, dispersando sus esporas en el agua o en el aire por medio de aerosoles. Basta que lleguen a los alveolos de una persona 7.000 esporas para causarle carbunco pulmonar a menudo mortal (del virus de Marburgo bastarian unos dos viriones). Si se pudiera distribuir equitativamente con un gramo se podrían matar a 10 millones de personas en una semana. Las autoridades americanas calcularon que con 100 kilos se podría arrasarse el area metropolitana de Washington de forma mas eficaz que un megaton. Las esporas del carbunco se pueden producir fácilmente, se pueden

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

congelar y liofilizar con un bajo coste. Con una inversión de 3 millones de ptas. Se puede obtener un kilo de esporas. Varios países están trabajando, desde hace mucho, con este microorganismo para atacar al hombre y a los animales e incluso al medio. Los alemanes en la IGM probaron la efectividad de agresiones biológicas y especialmente la de las esporas de anthracis para causar epizootias en los renos noruegos, las ovejas rumanas que se exportaban a Rusia, y (con el *B. mallei*), contra los bóvidos argentinos (se atribuyó a sabotadores los brotes de carbunco animal aparecidos en Argentina los años 1917 y 1918. En USA se constituyó en 1942, el War Research Service. Entre 1951 y 1954, lanzaron *Bacillus globigii* y *Serratia Marcescens* en ambas costas de América para demostrar la vulnerabilidad ante ataques microbiológicos, que se continuó con la dispersión de *Bacillus globigii*, en el metro neoyorquino &&

En 1985, Iraq comenzó a emplear esporas de carbunco (y toxina botulínica y aflatoxina) **During Operation Desert Shield, the coalition of allied forces faced the threat of chemical and biological agents. Following the Persian Gulf War, Iraq disclosed that it had bombs, Scud missiles, 122-mm rockets, and artillery shells armed with botulinum toxin, anthrax, and aflatoxin. They also had spray tanks fitted to aircraft that could distribute 2000 liters over a target.**

In 1994, a Japanese sect of the Aum Shinrikyo cult attempted an aerosolized release of anthrax from the tops of buildings in Tokyo. In 1995, 2 members of a Minnesota militia group were convicted of possession of ricin, which they had produced themselves for use in retaliation against local government officials. In 1996, an Ohio man was able to obtain bubonic plague cultures through the mail. In 1997, the Defense Against Weapons of Mass Destruction Act directed the Department of Defense to establish a domestic preparedness program to improve the ability of local, state, and federal agencies to respond to biological incidents. During 1998 and 1999, there have been multiple hoaxes involving the threatened release of anthrax in the United States that have resulted in decontamination and antibiotic prophylaxis for the intended victims. Nearly 6000 persons across the US have been affected by these threats. To date, none of these cases

involved actual anthrax bacteria. According to a CDC study, an intentional release of anthrax by a bioterrorist in a major US city would result in an economic impact from \$477.8 million to \$26.2 billion per 100,000 persons exposed.

Los ingleses construyeron en 1940, un laboratorio en Porton Down, la Unidad BDP, dirigida por Fildes. En 1942. Con esta base, Estados Unidos, Gran Bretaña y Canadá, prepararon en 1941 la "Bomba-N" de unos 250 kg que contenía cien pequeñas bombas de unos 3 kg, que liberaban un aerosol rico en esporas. Se probó en la isleta de Gruinard, (Escocia) , en 1942-43 en plena Segunda Guerra Mundial, empleando ovejas como objetivo. En 1947, la densidad de las esporas era prácticamente la misma y en 1984 aún se encontraban muchas y solo a partir de 1985 hubo una disminución importante pero insuficiente por lo que se desinfectó la tierra con formaldehído en 1986. El RU preparó cinco millones de "pasteles de carne" para el ganado con esporas, que se destruyeron al terminar la IIGM, pero sin embargo el RU llevó a cabo cinco ensayos con esporas de anthracis, la última en las Bahamas en 1955 según Carter (1992) .

Japón instaló durante la IIGM en el Sur de China una factoría en la que trabajaban 3.000 personas en la que obtuvieron "la bomba del anthrax" o "Ha" que contenía 1.500 cilindros xargados con esporas de carbunco o de toxina tetánica (Williams y col. 1989), fábrica que fue demantelada al terminar la guerra; algunos científicos y muestras fueron llevadas a Fort Derrick.

A primeros de abril de 1979 los médicos de Sverdlovsk ciudad industrial de los Urales (hoy Yekaterinburg), a 1.400 km de Moscow, de 1.200.000 habitantes tuvieron que atender al menos a 200 personas, la mayoría de las cuales trabajaban o vivían en una estrecha area en la que se encontraba una instalación militar, afectados inicialmente con un cuadro gripal, pero que rápidamente, sufrían hemorragias cerebrales y pulmonares con alta letalidad. A finales de 1979 se produjo un brote de carbunco en el ganado que pastaba al sur de la ciudad en la prolongación de la zona en la que se habían dado la mayoría de los casos humanos, siguiendo la dirección de los vientos dominantes. Borís Yeltsin, a la sazón, el máximo dirigente de la provincia y las autoridades comunistas locales,

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

atribuyeron la epidemia al consumo de carne infectada con carbunco, aserto que mantuvieron en un comunicado el 20-3-1980.

En 1988, dos médicos soviéticos manifestaron en una visita a USA que se había detectado un foco epizootico al sur de Sverdlovsk en marzo de 1979, que había provocado 17 casos de pústula maligna y 79 de carbunco intestinal con 64 defunciones: estos datos indicaban que el origen del brote humano se debía a contacto y sobre todo a ingesta de carne de animales contaminados (La información no decía si es que no calentaban la carne, si no hubo casos pulmonares etc. Sin embargo en 1992 aparecieron en la prensa rusa varios artículos cuestionando el origen alimentario. El portavoz oficial del gobierno contestó que, en 1979, se había trabajado con una nueva vacuna contra carbunco, pero que no habia noticias de ningún accidente. Los soviéticos disponían de un complejo militar, la ciudad número 19, en la que se efectuaban desde los años veinte, pese a ser firmante de la Convención de Armas Biológicas de 1972. experimentos de guerra biológica a través de un enorme consorcio -la empresa Biopreparat- que empleaba a docenas de miles de personas. Los habitantes de la ciudad, los clinicos y los forenses y por supuesto la CIA, sabían que la explicación oficial no era cierta. La doctora Faina Abráмова, a la sazón forenses de Sverdlovsk, autopsió el cadáver de un enfermo, de 36 años, que había participado en unos entrenamientos militares en la ciudad numero 19 que había ingresado con fiebre muy alta, trastornos respiratorios y pérdida del conocimiento. Abráмова, en 2001, ya con 80 años, dijo que se habían pedido camas para atender a enfermos de carbunco; ella había visto enfermos de este proceso, pero a diferencia del carbunco habitual en este caso afectaba a los órganos internos, sobre todo a los pulmones. A la autopsia acudieron muchos colegas que sentían curiosidad. En los hospitales de la ciudad habian aparecido enfermos con cuadros clínicos semejantes y la ciudad era un hervidero de rumores. Abráмова recuerda que una de sus ayudantes le susurró al oido que la noche anterior había participado en la autopsia de un cadaver con unos síntomas parecidos. Abráмова comprobó que las lesiones eran semejantes a las de un hombre mayor de 60 años que trabajaba en los laboratorios de Biopreparat. Las primeras defunciones, se dieron a los siete días de haber sido lanzadas a la atmósfera esporas de carbunco. Un técnico había quitado un filtro atascado en la planta, en la

que los fermentadores, cultivaba bacterias de las que obtenían esporas, que luego secaban para ser utilizadas en aerosoles. El responsable del turno olvidó dejar instrucciones para que se reemplazara el filtro, de modo que durante varias horas, hasta que se detectó el fallo, el potente sistema de secado lanzó a la atmósfera millones de esporas causando muchas muertes en los obreros de la fábrica de cerámica vecina a la ciudad número 19. Esta versión fue confirmada por Ken Alibek, uno de los jefes de Biopreparat, que en 1992 huyó a Estados Unidos y que es asesor del Pentágono en temas biológicos. En la transmisión natural del carbunco solo interviene una cepa, en los agresivos puede haber mezcla de varias. En el brote de Yekaterinburg de 1979 había cuatro de las seis cepas de ántrax conocidas. Las esporas debieron dispersarse por el viento, pues murieron animales que pastaban a 50 km. Los soviéticos obtuvieron una variante genética más potente del *Bacillus anthracis*, probada por la CIA, que muy probablemente han conseguido grupos terroristas.

Pilar Bonet en el País del 4 de Noviembre de 2001 entrevista a Nadia Málkova hija de Vera Koslov. Al volver Vera del trabajo el día 10 de abril de 1979, se sintió mal; tenía 40°C y tos y murió antes de las 24 horas. Nadia no pudo ver a su madre muerta, porque las autoridades sanitarias lo impidieron. El mismo día murieron varios compañeros de trabajo. A los entierros sólo dejaron ir a un hombre de cada familia. Los enterraron en una zona especial del cementerio y los rociaron con cloro que sería hipoclorito. Llegaron al domicilio de Málkova y de otros fallecidos así como en los edificios vecinos a la ciudad número 19. Personas provistas de máscaras y trajes especiales que recogían la tierra, limpiaban las fachadas, asfaltaban la calle sin dar explicaciones. A Málkova y le confiscaron la carne y las verduras de la nevera, y las sábanas de su madre. Unas enfermeras le dieron unas tabletas de tetraciclina, y dos misteriosos funcionarios le obligaron a firmar un documento por el que se comprometía a no contar nada de lo sucedido. Aquello hizo sospechar a Málkova que la versión de la carne contaminada no era verdad. "Mi hijo Andrei que entonces era pequeño, había dormido en la misma cama que mi madre y no se había contagiado, afirma Málkova que no puede contener las lágrimas cuando recuerda aquello. El certificado de defunción, que tardó en obtener, atribuía la muerte de su

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

madre a "una infección no identificada". Hoy, el número exacto de víctimas sigue siendo un misterio. Hay más de 60 casos documentados y posiblemente hasta varias decenas más que podrían haber sido archivados como víctimas de afecciones gripales. La doctora Abráмова y el doctor Lev Gridberg participaron en 42 autopsias y lograron guardar la documentación de su trabajo, pese a que debían entregar todo el material relacionado con las autopsias, (las historias clínicas fueron requisadas), y se sienten felices con las complicidades médicas, que les permitieron burlar a los representantes del Ministerio de Defensa y del Comité de Seguridad del Estado. La complicidad pasaba por el académico Nikíforov, especialista en carbunco, uno de los dos altos funcionarios médicos que llegaron desde Moscú para controlar la situación; Nikíforov, soñaba con poder utilizar los datos de aquella epidemia en sus trabajos científicos. Para ello, estaba dispuesto a ignorar que la enfermedad se había propagado por vía respiratoria, un dato secreto, ya que ponía sobre la pista de que se estaban desarrollando aerosoles en el programa de armas biológicas soviético. "Nikíforov permitió que describiéran las lesiones, sin sacar conclusiones", Tras la caída de la URSS, Abráмова y Grinberg publicaron los resultados de su investigación que habían callado durante 12 años, pero que sepamos el laboratorio de Sverdlovsk, donde se produjo el accidente de 1979, sigue funcionando y formando parte de la red de Biopreparat.

. En 1991, Boris Yeltsin, ya presidente de Rusia, ordenó a su Secretario de Ecología y Salud que determinara el origen del carbunco y en 1992 la URSS reconoció que se debió a un accidente en un centro de investigación de armas biológicas situado en el número 4 de la calle Zvezdnaya de Sverdlovsk y ya en mayo Yeltsin comunicó que "la K GB admite que nuestros programas de investigación militar fueron la causa". No hubo más información. El estudio epidemiológico efectuado por Meselson y cols. (1994), confirmó que la transmisión fue por vía respiratoria, por escape de esporas a la atmósfera el día dos de abril de 1979.

Es muy interesante que en 1992, Boris Yeltsin, promulgara un decreto que prohibía los experimentos biológicos con fines militares.

Entre 1985 y 1991, Irak desarrolló la producción de esporas de carbunco así como las del *Cl. perfringens*, cuya bacteria ocasiona gangrenas e intoxicaciones alimenticias, como toxinas botulínicas, y aflatoxina para ser empleados como armas de guerra. El ejército iraquí desplegó 200 bombas y 25 proyectiles balísticos cargados de agentes biológicos durante la operación “tormenta del desierto” aunque no las usaron y en todo caso hubiera sido poco eficaz por la enorme extensión de terreno a cubrir, porque no disponían de mecanismos de dispersión eficaces y porque las tropas americanas estaban vacunadas y disponían de filtros tipo HEPA. Se constituyó un organismo independiente llamado “Escorpión” que contaba con 21 expertos, que concluyó que los agresivos más importantes son el *B. anthracis* y la toxina botulínica y que estos agentes podían ser usados en cualquier parte y en cualquier momento, por terroristas o en hostilidades clandestinas. La población general no puede confiar en el ejército para su atención. Pese a la derrota de la Guerra del Golfo, a las resoluciones de la ONU y la inspección internacional Saddam Hussein dispone de un importante arsenal biológico. El Departamento de Defensa de USA anunció el 15 de diciembre de 1997, que se iba a comenzar a vacunar en coordinación con el “Anthrax Vaccine Immunization Program” a todos los militares para tener sus FAS protegidos en el 2004 contra el carbunco dado el posible uso bélico de este microorganismo. El 12 de abril de 2000, 425.976 personas habían recibido 1.620.793 de dosis de vacuna adsorbida (AVA). Algunos militares expresaron reticencias en cuanto a eficacia y seguridad para justificar su negativa pese a la posibilidad de ser castigados. Es básico cuantificar el impacto de un ataque con agresivos biológicos.

Kaufmann y cols. (1997) diseñaron un modelo que compara el impacto de tres agentes propuestos como agresivos la espora del carbunco, la *Brucella melitensis*, y la *Francisella tularensis* diseminadas por aerosoles en el suburbio de una gran ciudad. El costo estimado por cada 100.000 personas es de 477,7 millones de dólares si la agresión es con la *B. melitensis* y de 26.200 millones si se produce por carbunco.

A primeros de Septiembre de 2001 EE.UU. a través del Proyecto Baco ha desarrollado una zona de acceso restringido, en el Desierto de Nevada, donde además de experimentar con armas nucleares trabaja con

finestras defensivas” en agresivos biológicos contraviniendo el tratado internacional de 1972 sobre armas bacteriológicas que se iniciaron con el Gobierno de Bill Clinton, y que George Bush proclive a cuestionar la vigencia de muchos Tratados que limitan el desarrollo y el uso de agresivos químicos y microbiológicos internacionales, tiene la intención de ampliar el desarrollo de esos agresivos.

TERRORISMO. Aunque no como arma terrorista, pero si asesina hay antecedentes del uso del carbunco como agresor. En la citada novela “El Zueco”, Henry Murguer cuenta que un campesino ambicioso, para no perder una herencia debía eliminar a su criada a la que había comprometido con su hijo. Con este fin mete en una caja moscas de la cuadra en la que había dejado un caballo muerto tres días antes, protegiéndose cara y manos para no ser contaminado con ellas y las suelta en el dormitorio de la criada, cuya colcha había untado con miel, de madrugada rompe los cristales de la ventana para que salieran las moscas que habrían picado a la joven para no dejar huellas. “Baja gritó Derizelles a la criada, que tengo que hablarte. Me visto y voy, respondió esta. Al meter el brazo en la manga de su blusa, le pareció sentir en el hombro un entumecimiento doloroso, pero no se preocupó y se dio prisa para vestirse y reunirse con Derizelles. -Ahora, muchacha, ya has vuelto y pasado mañana, en la misa mayor, podrás si quieres, darte el gusto de oír tus amonestaciones. Pero mi hijo y yo pensamos, que no debes dejarte ver todavía. Así, pues, si alguien viniera a llamarnos no debes abrir a nadie. -¿Se marcha usted?, preguntó la sirvienta, llevándose la mano al hombro.- Voy a despachar algunos asuntos, y no volveré hasta la noche, ya tarde; mi hijo probablemente tampoco estará, pues hoy se cierra la veda. Confío en que, agregó familiarmente, cuando seas su mujer harás cuanto esté en ti para moderar un poco esa pasión ¿Que te pasa, te encuentro un poco pálida? ¿Has dormido mal? No -respondió la Lizón, pasándose la mano por los ojos, pero me siento un poco entumecida pero se pasará en cuanto tome el café. La Lizón se puso en seguida a arreglar la casa; pero al cabo de una hora tuvo que dejarlo, debido al dolor del hombro, que parecía extenderse por el brazo. Se quitó la blusa y examinó el sitio, donde no vio mas que una especie de mancha negra y redonda, que parecía sangre

coagulada, a consecuencia de un golpe o de una caída. Pensó, tal como le había dicho su futuro suegro, que aquella mancha era resultado del violento vaivén que había estado a punto de arrojarla del vehículo, y como en el mismo instante se sintiese dominada por un mareo que la obligó a apoyarse para no caer, atribuyó este otro síntoma, que desde hacía algún tiempo no era en ella raro, a su embarazo. Sin embargo, de hora en hora el mal iba progresando; el dolor se hacía cada vez más intenso y la hinchazón más visible. La Lizón pensó lavarse con agua salada, pero cuando, no sin dificultad, se sacó la manga de la blusa, que se le había quedado algo estrecha, lanzó un grito al ver que la mancha negra que había notado habíase extendido ya a las proximidades de la muñeca. En menos de un minuto Mélie estaba junto a la sirvienta, que antes de que hubiera podido explicar por qué motivo la había llamado tuvo que sufrir por parte de la muchacha un tropel de interrogaciones y reproches. -¿Qué quieres? ¿Por qué me llamas?-pregunto por fin Melie. La Lizón contó entonces, con palabras entrecortadas y gestos febriles el sufrimiento que experimentaba desde aquella mañana y que iba aumentando, y al terminar, descubrióle el hombro y el brazo. -¿Qué es esto?. ¿Qué es esto? ¿Qué mal es este Melie? -¿Lo sabes tú?, dijo. Mientras balbuceaba aquellas interrogaciones, una especie de susurro de alas dejóse oír en el cuarto, y una de las moscas que había quedado en la alcoba casi rozó el rostro de Melie, en el momento en que esta se inclinaba para examinar el brazo de la Lizón. La muchacha hizo un movimiento de espanto y se echó hacia atrás. -¿Qué te pasa?-Le pregunto la Lizón. Melie, sin contestar, cogió su pañuelo, lo retorció y golpeando contra la vidriera donde la mosca agitaba sus alas, retenida por esa especie de atracción que el vidrio ejerce sobre estos insectos, la hizo caer al suelo. La sirvienta la miraba con asombro hacer aquello. Melie, viendo que la mosca permanecía inmóvil sobre el suelo de la habitación, la recogió y la examinó atentamente. Si murmuró, como hablando para sí, igual a la del otro día. Se volvió luego hacia la Lizón, que la veía obrar sin comprender, pero, sin embargo instintivamente asustada. -¿Me preguntas qué te pasa? Pues bien, tienes la muerte ahí dentro,-dijo Melie, tocando el brazo, sobre el cual los progresos de la hinchazón habían llegado a ser casi visibles. -Y aquí está lo que te mata, agregó, aplastando la mosca con el pie.--¡Melie! ¡Melie gritó Lizón temblorosa, estoy envenenada exclamó de nuevo la

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

Lizón, dando un salto hacia la puerta. Pero Melie lo había previsto, y antes de que hubiese podido franquearla se había colocado delante, después de haber echado la llave, que se metió en el bolsillo .-Oye Lizón, díjole en voz baja, pero apresurada. Juro ante Dios que tienes la muerte dentro de las venas, no obstante, quizá pudieras verte a salvo si eres socorrida en seguida. Pues bien, jurame ante Dios que renuncias a mi primo”. “Al cabo de veinticuatro horas, pese a la Asistencia médica . quiso hacer un esfuerzo supremo para hablar, pero sus ojos comenzaron a girar dentro de sus órbitas, con una rapidez pavorosa, al mismo tiempo que convulsionaba su lengua, retorcia su boca abierta por el siniestro rictus de la agonía”

Nunca se había pensado la posible utilización del carbunco con fines terroristas. Entre abril de 1997 y junio de 1999, unas 200 cartas o llamadas telefónicas informaban del uso de esporas de carbunco para provocar alarma. En muchos de estos incidentes los servicios de emergencia se pusieron en alerta y se descontaminó innecesariamente la piel y los vestidos con lejía a más de 13.000 víctimas potenciales. En marzo de 1998 el espionaje británico detectó un plan de Bagdad para introducir esporas en el RU en botellas de alcohol o de perfume que determinó el estado de alerta en puertos y aeropuertos. El 30 de octubre de 1999 se recibieron cartas que decían que contenían esporas en varias clínicas de Indiana, Kentucky, y Tennessee. En diciembre, una carta que decía contener carbunco fue enviada a una oficina privada y se avisó en tres ocasiones por teléfono que se habían contaminado los sistemas de ventilación de edificios públicos y privados. En 14 meses entre 1998 y 1999 se produjeron en USA 47 incidentes documentados por el FBI, de posible exposición al carbunco que afectaron a 5.664 personas. Dos de estos incidentes en una ciudad americana, han sido descritos por Swanson y cols. (2000).

En los primeros días de octubre de 2001 se cursaron en USA una serie de cartas y paquetes postales que contenían esporas del carbunco, que han producido casos cutáneos y pulmonares que han causado hasta hoy 7 defunciones, la primera en el editor de la American Media en Boca Ratón (Florida). La bacteria era una variante, más virulenta, creada en la Universidad de Iowa durante la década de los cincuenta, que pudiera

haber conseguido alguna organización terrorista. Curiosamente al menos dos de los «kamikaze» involucrados en el atentado del 11 de septiembre eran suscriptores de algunas publicaciones sensacionalistas editadas la American Media, (10-X) En el edificio se encontraron esporas de la variante. La tercera víctima fue una mujer de 35 años que trabajaba en dicha empresa de Boca Ratón.

El día 20 de octubre ya se habían encontrado esporas en el metro, en las oficinas de la NBC, en el Senado y en la Cámara de Representantes. Ha habido tres casos de carbunco en cadena de TV de Nueva York y otros tres en otro edificio (hay otro séptimo caso),

El FBI encontró el 20 de octubre una máquina distribuidora de correo, rastros de carbunco de uno de los edificios representativos de la Cámara de representantes, cercano al Capitolio (antes en carta al Senado al demócrata Tom Daschle); se dio Cipro a 120 empleados. El FBI encontró esporas en una oficina de correos del Departamento de Justicia de Landover (Maryland) (antes del 30 X)

El carbunco pulmonar mató de forma fulminante el 22 de octubre a dos empleados de Correos de esa oficina, pese a haberseles administrado dosis elevadas de antibióticos. Se vigila a los empleados de la oficina de Correos del Capitolio en donde había llegado una carta con esporas, encontrándose estos en cinco personas expuestas; también había esporas en una oficina postal del Pentágono y el 5 de noviembre se hallaron en un paquete enviado por la NBC a la alcaldía de Nueva York y en la oficina de correos de un hospital de veteranos de Washington por carta dirigida desde la central de distribución de Brentwood por donde había pasado la carta dirigida al senador Tom Daschle. & El 28 de Octubre ingresó en el Hospital Lenox Hill de Nueva York, Katy Nguyen de 61 años trabajadora de dicho centro en el almacén en donde se había depositado correspondencia; la enferma murió el 1 de noviembre. No se encontraron esporas ni en su casa ni en el almacén del Hospital El 31 de octubre se diagnosticó en New Jersey en un empleado de correos una pústula maligna. La Fiscalía de Estados Unidos anunció el 10 de Octubre de 2001 que la investigación sobre los casos de contagio de “ántrax” era de «tipo criminal”.

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

El Departamento de Estado de USA pensó en una agresión terrorista de los fanáticos islamistas, que habían con ataques suicidas derruido las Torres Gemelas de Nueva York y atacado al Pentágono el 11 de septiembre.

El Departamento de Estadounidense, ordenó el 10 de octubre, a sus embajadas y consulados en todo el mundo que acaparen reservas de ciprofloxacino suficientes para tratar a todos sus empleados durante tres días ante el temor de un atentado -bacteriológico. si bien «no se tiene ninguna información que indique que existe una amenaza inminente». según Richard Boucher, portavoz del Departamento de Estado.

Alarma y pánico. Innumerables falsas alarmas se han registrado en diversas ciudades de América e incluso en Canadá. Entre esos episodios hemos espigado estos: El día nueve de octubre en Covington (Kentucky) fueron evacuados ante la aparición de una sustancia extraña en un sobre. El cierre temporal de una oficina dedicada a procesar las declaraciones de Hacienda en Kentucky, con mil empleados por haberse abierto una carta con polvos blancos, que luego se vio que eran inocuos

Por la alarma de la población en el suburbio de Hialeah, en Miami, los equipos de tratamiento de materiales peligrosos ocuparon dos viviendas el día siete cuyos inquilinos, se daban por muertos tras abrir dos sobres con un misterioso polvo blanco. En Nápoles, en el Golfo de Florida, la policía cerró dos edificios tras hallar una sustancia blanca en contenedores de correo y 80 personas fueron descontaminadas. En un suburbio de Washington, se clausuró el día nueve una estación de Metro durante seis horas, porque un hombre, que se demostró era un perturbado lanzara a la vía un «spray» que luego se demostró que era un limpiador de alfombras. En Manassas (Virginia) cientos de personas acudieron en busca de máscaras antigás después de que se especulara con la posibilidad de otro brote al enfermar una persona por lo que luego se demostró era una gripe. Se desencadenó la alarma en un avión en el que se encontró debajo de un asiento un periódico que contenía un poco de polvo blanco. Un Boeing 757 fue escoltado el 10 de octubre por dos F-16 hasta aterrizar en Louisiana al avisar el piloto a la torre de control que se estaban produciendo disturbios, causados por un pasajero al que se descubrió fumando en el lavabo del aparato. Fue detenido. Jordan

Arizmendi, un estudiante de periodismo de padre vasco, libertado a las pocas, debido que por broma había enviado por correo electrónico una misiva de despedida a sus ex compañeros de “The Sum” en cuyo edificio se había encontrado carbunco, que había causado la muerte de un fotógrafo. en la iiiiel que les decía que había dejado sorpresas en la oficina. Las reservas de ciprofloxacino se agotaron en Nueva York. Bayer triplicó la producción de este medicamento y se racionó dando solo 10 tabletas por persona en riesgo.

Se han hecho sospechosos todos los envíos postales y cualquier pequeño incidente, El Gobierno federal no contribuye a calmar los ánimos; el fiscal general. John Ashcroft, ha repetido varias veces «Hay que estar vigilantes» .

El 17 de octubre de 2001 se clausuró el Congreso de USA hasta el día 22 por haberse encontrado esporas en el sistema de ventilación de la oficina que recibe el correos, a la que probablemente llegaron desde una carta recibida por el Senador demócrata Tom Dash. Se encontraron esporas en 27 trabajadores de la oficina del y en otros cuatro empleados del Congreso; se administró a mas de 200 empleados ciprofloxacino. En NY se encontro espora en la oficina del Gobernador del Estado. El 18 de octubre en USA apareció un caso de pústula maligna en una ayudante del presentador del principal informativo de la CBS Dan Rather y otro caso en el asistente de otro presentador de TV de la NBC en Nueva York . Una empleada de la oficina postal de Trenton en Nueva Jersey dió positivo la búsqueda de esporas el 18-X-2001. El Director de la Oficina de Seguridad Nacional Tom Ridge recordó que de las 1.400 personas analizadas solo cinco han desarrollado la enfermedad. El 27 de octubre habían tomado ciprofloxacino 10.000 personas.

El 18 de octubre de 2001 el Ministro de Sanidad de Kenia informó que una carta dirigida a un empresario de la ciudad de Nyeri, desde Atlanta, tenía un polvo con esporas,contagiandose con ellas 4 familiares a los que se dió quimioprofilaxis y que se habían detectado otras dos cartas con esporas. A Argentina llegó una carta, enviada desde Miami, que no fue abierta; el sobre no estaba contaminado, pero el folleto turístico que contenía, había sido impregnado con esporas. (se dio quimioterapia a seis

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

personas que habían contactado con la carta). También se encontraron esporas en correspondencia enviada a la embajada de USA en Perú.

ALERTA MUNDIAL.

El ataque terrorista desencadenado por el ataque suicida a USA originó, un ambiente favorable a todo tipo de alarma, que llega hasta el pánico. Así, en Berlín el día 10 de octubre de 2001 la policía acudió a un almacén en el que se sospechaba que había un paquete con carbunco.

Los diversos países han activado sus sistemas defensivos. En lo que hemos podido determinar, dado el sigilo con el que se llevan a cabo estas acciones, en gran parte para no aterrorizar más a la población, se sabe que Francia han activado los planes Biotox, que pretende incrementar a medio plazo el dinero dedicado a la prevención de riesgos biológicos, formar a especialistas y dotarse de antidotos y el Piratox contra las amenazas . El RU ha adoptado medidas que mantienen secretas. En Italia han obtenido cinco millones de dosis de vacuna antivariólica y han activado un número de emergencia que funcionará 24 horas al día en el Ministerio de Sanidad. Incluso el Vaticano ha dado instrucciones para evitar el contagio por la correspondencia.

El líder del partido unionista del Ulster David Trimble recibió quimioprofilaxis ante la posibilidad de haberse contagiado durante su estancia en Washington en el mes de octubre.

Una curiosa “broma” tuvo lugar en Marruecos. El 15 de octubre, Hicham Qadiri, un empresario de Agadir, para gastar una broma a su amigo Abdelkader Alj,. Ambos están, a su vez, unidos al príncipe Mulay Hicham, primo carnal de Mohamed VI, por una estrecha amistad.. Para ello le envía una carta que recibe, Abdelkader Alj. La carta contenía un polvo blanco, y un escrito en árabe que decía "Somos un grupo islamista que lleva a cabo la yihad contra los musulmanes depravados. Usted está asociado a un judío sionista que ha concedido ayudas sustanciales al Estado de Israel” Como esos datos eran ciertos, al leer la carta Abdelkader Alj presa del pánico se desnudó y pidió a sus empleados que le arrojaran agua. En el Instituto Pasteur de Casablanca, le comunicaron al

día siguiente, que el polvo era pegamento seco. Ante ello hizo la denuncia pertinente e informó a sus amigos entre ellos a Hicham Qadiri el cual confesó la autoría. Abdelkader Alj quiso pero no pudo retirar la denuncia, e incluso la policía quiso que firmara una acusación contra a Mulay Hicham. Preocupado ante esto, Hicham Qadiri se presentó en la comisaría de Casablanca, en donde la policía le sometió a ocho horas de interrogatorio dirigido a hacerle confesar la responsabilidad del príncipe. Quedó detenido `reventivamente durante tres días, durante la cual logro hablar por teléfono celular con el príncipe. Dejo abierto el teléfono y Mulay Hicham, oyó a la policía decir: "Di que es Mulay Hicham y todo volverá a la normalidad. Enemistado con Mohamed VI desde su entronización, hace 27 meses, y vetado en palacio, solicitó del monarca que cesase la persecución para rogarle que se parase la ofensiva el cual intevino, suavizando la presión sobre Mulay. El príncipe, sin embargo ha señalado al general Laanigri como el responsable de esta intriga,

SITUACIÓN EN ESPAÑA

España dispone de un incipiente mecanismo de defensa NBQ iniciado por Sanidad Militar y especialmente por los Profesores Piédrola Gil y Amaro , que posteriormente pasó a ser gestionado por Armas mas eficaces logísticamente pero no en en cuanto a doctrina. La dedicación del antiguo Instituto de Higiene militar a otros fines y la parquedad de sus recursos minimizan mucho la posible defensa contra agresiones biológicas por parte de Defensa. Hay tres unidades de defensa NBQ (nuclear, biológica y química), situadas en Torreldones, Valencia, y Burgos. Además el Hospital militar Gómez Ulla, de Madrid, tiene disponibles unas 1.500 camas, de las 2000 de que consta. El Ministerio de Defensa puso en marcha un plan de emergencia ante un posible atentado del integrismo islámico. Se han concertado un número no publicado de camas en los hospitales públicos y se ha establecido una línea permanente de comunicación con el Ministerio de Sanidad. Hay que añadir a esos escasos recursos las mínimas unidades NBQ del Cuerpo Nacional de Policía y de la Guardia Civil. El 9 de octubre de 2001 altos mandos militares y del Ministerio de Sanidad celebraron la primera

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

reunión para coordinar un plan de prevención contra posibles atentados bacteriológicos. Como primera medida se ha lanzado una alerta epidemiológica a las comunidades autónomas para que se extienda la vigilancia en todos los centros sanitarios ante la hipotética aparición de casos relacionados con este tipo de ataques. Esta medida se une a las adoptadas por Medio Ambiente en la red de suministro de agua. En Sanidad, la coordinación del plan de acción corresponde a la directora general de Relaciones Institucionales y Alta Inspección, Regina Muzquiz.

Ante una situación de alarma, los dedos se hacen huéspedes y así una carta recibida por la Siemens de Tres Cantos a la que se adherían los dedos, hizo que a los que manipularon la carta se les pudiese en vigilancia y se les dio quimioprofilaxis. El 17 de octubre la Dirección General de Salud Pública de Madrid tuvo que descartar que hubiera casos de carbunco en la provincia de Madrid. Se sabe que industriales de origen árabe intentaron comprar maquinaria para la elaboración de componentes químicos o fertilizantes, fácilmente convertibles en agresivos. (empresas alemanas vendieron antes de la Guerra del Golfo maquinaria a terroristas).

Entre el 10 y el 25 de octubre, los bomberos y la Policía de Barcelona habían efectuado más de 50 servicios para retirar sobres y paquetes que contenían azúcar, polvos de talco, o harina. Las autoridades españolas han recordado (que las bromas relacionadas con envíos de estas sustancias están castigadas con hasta un año de prisión).

El Ministerio de Sanidad el 17 de octubre recomendó que toda carta sospechosa se debe meter en una bolsa de plástico, quien la haya manipulado se debe lavar las manos, si cree que se pudo contaminar su ropa, debe quitársela y ducharse; se informará a sanidad y a la policía. La Dirección de Correos de España, dirigió a sus trabajadores el 22 de octubre de 2001 una circular con instrucciones para evitar el contagio por envíos postales.

Pedro Gallardo, jefe de los 1.584 bomberos del Ayuntamiento de Madrid, aseguró que no están ni "preparados, ni formados, ni capacitados, ni equipados" para socorrer en caso de ataques químicos o bacteriológicos. "Si alguien mete gas en el metro, tampoco tenemos equipo. Los primeros intoxicados seríamos nosotros. Considera que sería

enormemente caro equipar a los bomberos para una situación de guerra, que a su juicio, no es función de un bombero.

Se han dado cursillos en Madrid al SAMUR impartidas por el Ministerio de Defensa.

PREVENCIÓN. Como en todo problema sanitario la prevención puede ser primaria es decir actuando lo más próximo al lugar de actuación mas específico y generalmente eficaz sobre el problema concreto. En el caso de una agresión con esporas de *B. anthracis* la prevención primaria se basa en la descontaminación de la superficie del cuerpo y de los edificios, material etc, mediante hipocloritos o formol. En 1999 los laboratorios nacionales "Sandía" de USA american obtuvieron una espuma formada por una combinación de peróxido de hidrógeno u otros oxidantes que forma miles de mínimas burbujas que rompe los enlaces químicos de los fosfatos y de los sulfatos (utilizables para descontaminar de agresivos químicos) así como las cubiertas de las esporas (probada sobre las del *Bacillus gobigi*, similar al anthracis. La espuma es inocua para el hombre. La protección individual se puede hacer por mascarillas, tipo HEPA que cuestan. casi 50.000 ptas. y trajes de protección cuyo precio oscila entre los 13.000 y las 800.000 ptas que requiere tener constancia del ataque y disponer de esos medios en ese momento y lugar lo cual exige una amplísima e inasumible generalización de esos recursos. La quimioprevención con ciprofloxacino y la vacunación previa de la población presuntamente afectada.

Varios años antes del 11 de septiembre habían recibido misivas amenazando con emplear carbunco clínicas, en las que practicaban abortos. Los inductores de la agresión con esporas de *B. anthracis* no han sido aún identificados. Por haberse producido pocos días después de la terrible matanza y destrucción de las Torres gemelas se pensó que podría tratarse de otra acción de los fundamentalistas islámicos, pero es más verosímil que provenga de grupos neonazis antijudíos o de simpatizantes del causa palestina. Es posible que sean actos irracionales de algún perturbado, de algún erostrato o de un despechado por un agravio real o imaginario. Esto nos lleva a que si es tan fácil atacar con agresivos NBQ, la prevención no puede basarse tener mas fuerza, mas información, etc.,

sino en la educación no solo sanitaria sino moral. Todos los hombres debemos tener grabada en nuestra conciencia el precepto de “no matarás” como irrenunciable y esto en todos los ordenes desde el aborto a la eutanasia, pues si se acepta alguna justificación para matar se abre la puerta a hacerlo por causas que pudieran parecer nobles como el patriotismo, pues si este sitúa prioritariamente alguna reivindicación sobre la vida está corrompiendo aquello por lo que lucha.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) BAILLIE LW. (1999) Presentation of protective antigen to the mouse immune system: immune sequelae. *J Appl Microbiol.* 87: 31-57;
- (2) BAILLIE LW, MOORE P, MCBRIDE BW. (1998) A headucible Bacillus subtilis bacteriophage phi 105 expression system for the producon of the protective antigen of Bacillus anthracis. *FEMS Microbiol Lett.* 163: 437;
- (3) BROSSIER F, WEBER LEVY M, MOCK M, SIRARD JC. (2000) Role of toxin funconal domains in anthrax pathogenesis. *Infec Immun.* 68: 178-16;
- (4) BOUDGHENE STAMBOULI O, MERAD BOUDI A, AISSA MAMOUN (1999) A. Charbon: une lesion escarroque inhabituelle. *Ann Dermatol Venereol.* 126: 71-89;
- (5) CARTER GB. (1992) Porton Down: 75 Years of Chemical and Biological Research. London: HMSO,
- (6) COHEN S, MENDELSON I, ALTBOUM Z, KOBILER D, ELHANANY E, BINO T, LEITNER M; INBAR I, ROSENBERG H, GOZES Y, BARAK R, FISHER M, KRONMAN C, VELAN B, SHAFFERMAN A. (2000) Attenuated nontoxinogenic and nonencapsulated recombinant Bacillus anthracis spore vaccines protect against anthrax. *Infect. Immun.* 68: 4549-58;
- (7) DANDO M. (1994) Biological Warfare in the XXI Century Ed Brassey Londres
- (8) DUESBERY NS, VANDEWOUDE GF. (1999) Anthrax lethal factor causes proteolyc inacvaon of mitogen activated protein kinase kinase. *J Appl Microbiol.* 87: 289-93;
- (9) EKÉUS R. (1992) The UN. Special Comissionm on Iraq. Stockholm International Peace Research Institute. Univr.Press.
- (10) FARRERAS P, ROZMAN C. (1987) Patología médica. Doyma, Barcelona,.

MANUEL DOMÍNGUEZ CARMONA

- (11)FOUET A, NAMY O, LAMBERT G. (2000) Characterizaon of the operon encoding the alternave sigma(B) factor from Bacillus anthracis and its role in virulence. *J Bacteriol.* 182: 5036-45;
- (12)GEHR, P. (1984) Respiratory tract structure and function. *J. Toxicol. Environ. Heafth*, 12, 235,.
- (13)GEISSLER E. (1990) Strengthening the Biological Weapons Convention by Confidence-Building Measures. Oxford: Oxford University Press. .
- (14)GOLD H. (1996)Unit 731 Testimony. Tokyo: Yenbooks,.
- (15)HAIL AS, ROSSI CA, LUDWIG GV, IVINS BE, TAMMARIELLO RF, HENCHAL EA. (1998) Comparison of noninvasive sampling sites for early detecon of Bacillus anthracis spores from rhesus monkeys after aerosol exposure. *Mil Med.* 164: 833-7;
- (16)HANNA P. (1999) Lethal toxin acons and their consequences. *J Appl Microbiol.* 87: 28-57;
- (17)HARRISON AB. (1987) Medicina Interna. Interamericana, Madrid,.
- (18)HOFFMASTER AR. KOEHLER TM. (1999) Control of virulence gene expression in Bacillus anthracis. *J appl Microbiol.* 87: 279-81:
- (19)HUNNINGHAKE GW. KAWANAMI O, FERRANS VJ, Y COLS. (1981) Characterization of the inflammatory and immune effector cells in the lung parenchyma of patients with interstitial lung disease. *A Respir Dis.* 123; 407:.
- (20)JACKSON PJ, HUGH JONES ME, ADAIR DM, GREEN G, HILL KK,KUSKE CR, GRINBERG LM, ABRAMOVA FA, KEIM P. (1998) PCR analysis of issue samples from the 1979 Sverdlovsk anthrax victims. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95: 122-49;
- (21)LAMB R. (1973) Anthrax. *Br Med J.* 1; 157:.
- (22)MCBRIDE BW, MOGG A, TELFER JL, LEVER MS, MILLER J, TURNBULL PC, BAILLIE L (1998) Protective efficacy of a recombinant protective angen against Bacillus anthracis challenge and assessment of immunological markers. *Vaccine.* 16: 810-7:
- (23)MESELSON M, GUILLEMIN J, HUGH-JONES M, LANGMUIR A, POPOVA I, SHELOKOV A, YAMPOLSKAYA O. (1994) The Sverdlovsk Outbrak of 1979. *Science.* 266; 1202.
- (24)PATRA G, VAISSAIRE J, WEBER LEVY M, LEDOUJET C, MOCK M. (1998) Molecular characterizaon of Bacillus strains involved in outbreaks of anthrax in France in 1997. *J Clin Microbiol.* 36: 3412-4:
- (25)RAMISSE V, PATRA G, VAISSAIRE J, MOCK M. (1999) The Ba813 chromosomal DNA sequence effecvely traces the whole Bacillus anthracis community. *J Appl Microbiol.* 87: 22-48:

AGRESIONES A TRAVÉS DEL AIRE

- (26) REDMOND C, HALL GA, TURNBULL PC, GILLGAN JS. (1997) Experimentally assessed public health risks associated with pigs from farms experiencing anthrax. *Vet Rec.* 6; 244-7;
- (27) SAIZ MORENO L. (1990) Aspectos epidemiológico de las zoonosis. Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid,.
- (28) SHIN S, KIM YB, HUR GH. (1999) Involvement of phospholipase A2 activation in anthrax lethal toxin induced cytotoxicity. *Cell Biol Toxicol.* 15: 19-29;
- (29) SHLYAKHOV E, RUBINSTEIN E. (1994) Hypersensibilité retardée charbonneuse post-vaccinale. II--Hypersensibilite retardée chez l'homme vacciné contre le charbon. *Med Trop Mars.* 54: 133,.
- (30) SPIERS EM. (1996) Chemical and Biological Terrorism. En: The Centre for Defence Studies. Ed King's College. London.
- (31) SWANSON ER, FOSNOCHT DE. (2000) Anthrax threats: a report of two incidents from Salt Lake City. *J Emerg Med.* 18: 22-93;
- (32) TURNBULL PC, LINDEQUE PM, LEROUX J, BENNETT AM, PARKS SR. (1998) Airborne movement of anthrax spores from carcass sites in the Etosha National Park, Namibia. *J Appl Microbiol.* 84: 667-76
- (33) VARUGHESE M, CHI A, TEIXEIRA AV, NICHOLLS PJ, KEITH JM, LEPLA SH. (1998) Internalizaon of a Bacillus anthracis protective antigen cMyc fusion protein mediated by cell surface anti cMyc antibodies. *Mol Med.* 4: 87-95;
- (34) WALKER DH. (1994) Death at Sverdlovsk: what have we learned? *Am J Pathol.* 144:1135-1141.
- (35) WILLIAMS P, WALLACE D. (1989) Unit 73: Army's Secret of Secrets. Ed Hodder and Stoughton..
- (36) ZAUCHA GM, PITT LM, ESTEP J, IVINS BE, FRIEDLANDER AM. (1998) The pathology of experimental anthrax in rabbits exposed by inhalation and subcutaneous inoculation. *Arch Pathol Lab Med.* 122: 982-92;
- (37) ZEGERS ND, KLUTER E, VANDERSTAP H, VANDURA E, VANDALEN P, SHAW M, BAILLIE L. (1999) Expression of the protective antigen of Bacillus anthracis by Lactobacillus casei: towards the development of an oral vaccine against anthrax. . 87: 309-14: *J Appl Microbiol.*