

Ántrax y botulismo como armas biológicas

Raúl Garza-Velasco¹, Diana Y. Zepeda-Arriaga¹, Sofía Reyes-Huesca¹ y Luis Manuel Perea-Mejía²

¹Facultad de Química, UNAM

²Facultad de Medicina, UNAM

ABSTRACT

Because anthrax and botulism are two of the most serious diseases related to bacteria both have been considered between the main biological weapons by the army of several countries and terrorists.

Inhalational anthrax occurs when spores of *Bacillus anthracis* are inhaled. The initial symptoms are not distinctive: fever, cough and malaise but the pathology progress to dyspnea, cyanosis and finally to shock, coma and death.

By the other hand botulism begins with nausea and vomiting, as well as headache, double vision and several neurological symptoms. Death occurs if the general flaccid paralysis interfere with breathing and hart function.

The present work describes the main characteristics of both diseases as biological weapons including some topics about terrorism-preparedness, laboratory diagnosis and treatment.

INTRODUCCIÓN

El término “guerra biológica” alude al uso de agentes patógenos, predominantemente virus, bacterias y toxinas, para provocar intencionalmente grandes epidemias asociadas a enfermedades con altos índices de mortalidad dentro del bando contrario (Butler, 2001; Dennis, 2001).

Evidentemente, debido a su bajo costo y a la relativa facilidad con la que pueden producirse, estas armas de destrucción masiva resultan accesibles para los terroristas y, desde luego, para los países subdesarrollados interesados en equilibrar su potencial bélico en relación con el de las naciones más poderosas; en tal sentido, es claro que su desarrollo representa otro importante factor de riesgo para la salud y supervivencia de la humanidad (Redy, 2001).

La eficacia de las armas biológicas obedece a la elevada virulencia de los agentes utilizados y a la posibilidad de proyectarlas por vía aérea, aunque también influye el hecho de que son invisibles, insaboras e inodoras, lo que determina que sólo se les pueda detectar hasta que la población “blanco” empiece a manifestar los signos y síntomas correspondientes.

Si bien desde hace más de un siglo se ha venido experimentando con docenas de potenciales armas biológicas, las que han prevalecido como mejores opciones son las esporas del ántrax, la toxina botulínica, las bacterias de la peste (o plaga)

y la tularemia, así como el virus de la viruela y los que originan las fiebres hemorrágicas. Ciertamente, al ántrax se le reconocen más ventajas, pero ello no representa un argumento suficiente para desestimar a las restantes; de hecho, la incuestionable letalidad y factibilidad de todas ellas dificulta la toma de decisiones destinadas a proteger a civiles y militares (Simon, 1997).

En virtud de que la principal vía de transmisión de las armas biológicas es la inhalatoria, aquéllas se pueden liberar –para crear aerosoles– desde aviones, avionetas, helicópteros, barcos y lanchas, o bien, contenidas en misiles, bombas u otros proyectiles. Sin embargo, cuando se trata de prácticas bioterroristas, destacan el uso de sprays industriales y la dispersión a través de los sistemas de aire acondicionado, tales como los que se encuentran instalados en las terminales del transporte público, aeropuertos, cines, teatros y salones de fiesta; inclusive, no debe descartarse la posibilidad de que humanos suicidas infectados ingresen a lugares cerrados muy concurridos (Butler, 2001; Redy, 2001).

Entre los países que contarían con esta clase de herramienta bélica se ha mencionado a Irak, Irán, Siria, Israel, India, Libia, Corea del Norte, Vietnam, Taiwán, China, Rusia, Cuba y EUA, así como a los grupos tales como el Aum Shinrikyo japonés y el Al Qaeda medio oriental. Sin embargo, dicha información corresponde a meras especulaciones que los organismos internacionales de seguridad no han logrado confirmar en los últimos lustros.

El presente trabajo describe los principales aspectos que caracterizan al ántrax y al botulismo como dos de los cinco agentes considerados como críticos en el ámbito de preparación y respuesta contra eventuales ataques bioterroristas.

ÁNTRAX

La especie bacteriana *Bacillus anthracis* es un bacilo aerobio Gram positivo que desarrolla con rapidez, duplicando su población cada 20 a 25 minutos en los medios de laboratorio más sencillos. Además, con facilidad emite sus esporas, particularmente cuando los nutrientes disminuyen hasta concentraciones insuficientes para el crecimiento.

Dichas esporas representan las estructuras de resistencia del microorganismo hacia las condiciones adversas y, paralelamente, son la forma que infecta a humanos y animales; además, su tamaño es el adecuado para ser transmitidas a través de aerosoles y su constitución química les garantiza la supervivencia aún después de exponerse a la acción de la luz ultravioleta solar y al resto de los factores ambientales, así como a las turbulencias y a las detonaciones implicadas en su eventual lanzamiento dentro de bombas, misiles u otros proyectiles (Mock, 2001).

Una vez que alcanzan los pulmones, las esporas se revierten en bacilos, los cuales se desplazan hasta los nódulos linfáticos más cercanos, en donde se reproducen y liberan su potente exotoxina; ambos, bacterias y toxina ingresan con

facilidad a la circulación sanguínea: las primeras ocasionan una grave septicemia, mientras la segunda le provoca al individuo trastornos respiratorios graves (disnea, cianosis, etc.) que conducen al paro respiratorio. Se considera que la toxemia (presencia de toxina en sangre) resulta mortal en más del 90% de los casos (Chensue, 2003; Lacy, 2002).

Esos efectos aniquilantes, sumados al hecho de que la enfermedad no es contagiosa de persona a persona y a que su periodo de incubación es muy corto (1 a 6 días) y consistente, constituyen algunos de los argumentos más sólidos para considerar al ántrax como el arma biológica más interesante (Chensue, 2003).

Cabe señalar que el padecimiento de la población “blanco” se asegura con la inhalación de 5,000 a 30,000 esporas por individuo, lo que no representa un obstáculo insuperable, habida cuenta que bastaría con liberar 50 Kg del arma biológica (bajo condiciones climáticas favorables) para poner en peligro de muerte a más de un millón de personas (Mock, 2001).

La toxina del ántrax, principal factor de virulencia del microorganismo, está conformada por 3 proteínas: 2 de ellas, conocidas como factor letal (FL) y factor de edema (FE), respectivamente, son responsables de la muerte celular progresiva en el organismo “blanco”. Por su parte, la tercera es denominada AP (antígeno protector) y resulta muy interesante: se liga al FL y al FE, reconoce a las células “blanco” e interacciona con ellas, después de lo cual sufre algunas

modificaciones que propician el ingreso del FL y el FE hacia el citoplasma. Sin embargo, puesto que el AP no resulta tóxico en forma individual, su principal papel es el de inmunógeno protector: cuando se le inocula en forma libre en forma libre a humanos o animales, estimula la producción de anticuerpos capaces de neutralizar a la toxina completa (Bradley, 2001; Lacy, 2002).

En otras palabras, el AP –junto con algunos estabilizadores– constituye la actual vacuna anti-ántrax; ésta sólo se administraba a quienes manipulan y cepillan las pieles animales, hasta que en 1990 se aplicó a buena parte de los militares estadounidenses que participaron en la operación “Tormenta del Desierto”, previendo que Saddam Hussein utilizara armas biológicas.

Es oportuno comentar que, a consecuencia de los acontecimientos del 11 de septiembre de 2001, diversos grupos de la población civil estadounidense han venido solicitando que la vacunación anti-ántrax comprenda a toda la comunidad. Sin embargo, ello sería inviable, debido a que el esquema correspondiente incluye al menos 3 dosis –aplicadas a intervalos de 2 semanas– y la elaboración de suficiente producto vacunal implicaría gastos por varios millones de dólares; además, en el remoto caso de que la vacunación generalizada procediera, todo ese gran esfuerzo resultaría inútil si los eventuales ataques terroristas –a los cuales teme la población estadounidense– se realizaran con botulismo, peste, tularemia, viruela, etc. (Bradley, 2001; Lacy, 2002)

Así las cosas, ante alguna sospecha de muy próximos o recientes ataques con ántrax, sería más conveniente iniciar un régimen “profiláctico-terapéutico” basado en antibióticos tales como penicilina, eritromicina, tetraciclina, ciprofloxacina y doxiciclina; durante el lapso de su administración, cualquiera de ellos impediría la reproducción de la bacteria y, por ende, la liberación de toxina hacia el torrente circulatorio. Cabe subrayar que lo anterior difiere notablemente de lo que ocurre cuando dichos antimicrobianos se emplean para tratar la enfermedad; en este último caso, la mortalidad alcanza el 90% cuando los antibióticos empiezan a aplicarse hasta 24 a 48 h después de aparecidos los síntomas (Friedländer, 2001).

BOTULISMO

Esta enfermedad es debida a la acción de toxinas producidas por la bacteria *Clostridium botulinum*, otro bacilo esporulado Gram positivo que también desarrolla con rapidez en diversos medios de cultivo de laboratorio.

Si bien las características microbiológicas anteriores coinciden con las de *Bacillus anthracis*, debe señalarse que la utilización del botulismo como arma biológica resulta bastante más compleja: por un lado, *C. botulinum* es un microorganismo anaerobio, el cual muere rápidamente al entrar en contacto con oxígeno y, por el otro, sus esporas no transmiten la afección por vía aérea ya que, al llegar a los pulmones, enfrentarían un elevado potencial de óxido-reducción que impediría su transformación a bacilos (Collins, 1998).

De hecho, la diseminación de la enfermedad por vía inhalatoria requeriría que los aerosoles correspondientes estuvieran constituidos por la propia toxina botulínica, obtenida desde el laboratorio, después de haber cultivado al microorganismo –en condiciones de anaerobiosis– y de haberlo lisado mediante algún método fisicoquímico. Una vez proyectados los aerosoles bajo condiciones climáticas apropiadas, la toxina inhalada llegaría a los pulmones, ingresaría a la sangre y se distribuiría en el sistema nervioso, “blanco” de su poderosa acción patógena (Arnon, 2001).

La neurotoxina botulínica (BoNT) representa el veneno más potente de cuantos se conocen: un solo gramo de ella es capaz de ocasionar la muerte de varios cientos de miles de individuos. En virtud de que impide la liberación de acetilcolina, un importante neurotransmisor del organismo humano y animal, impide la contracción muscular, generando múltiples signos y síntomas asociados al relajamiento anormal de los músculos: diplopía (visión doble), disfagia (incapacidad para deglutir), disfonía (dificultad para hablar), parálisis flácida de la cara, atelectasias (falta de expansión pulmonar necesaria para respirar) y, finalmente, paro cardio-respiratorio (Shapiro, 1997; Franz, 1997).

El periodo de incubación del botulismo es de 6 a 48 h y la muerte suele sobrevenir en 1 a 7 días, en el caso de no aplicarse el tratamiento correspondiente durante las primeras etapas del padecimiento (Arnon, 2001).

En tal contexto, es oportuno precisar que existen al menos 8 serotipos (variantes) de toxina botulínica, designados como A, B, C α , C β , D, E, F y G, de los cuales los que afectan de manera natural al humano (por ingestión de alimentos contaminados) son el A, B y E; ante esa situación, los laboratorios de salud sólo suelen producir antitoxina trivalente (anti-ABE), lo que implica una clara vulnerabilidad a las BoNT de los serotipos C α , C β , D, F y G (Collins, 1998; Wictome, 1999).

Afortunadamente, la BoNT aerosolizada no resulta muy estable en la atmósfera: se degrada fácilmente en condiciones de humedad y/o temperatura elevadas, e inclusive, con la luz ultravioleta solar (Arnon, 2001).

A tal respecto, otras posibles rutas para la dispersión de la BoNT serían la oral (por contaminación intencional de agua o comida) y la percutánea, aunque ambas resultan aún menos efectivas que la vía aérea (Burrows, 1999).

Por ejemplo, la contaminación intencional del agua potable no representaría un gran peligro: los terroristas necesitarían una gran cantidad de BoNT, ya que el cloro la inactiva fácilmente en concentraciones de 0.4 mg/L, proporción muy cercana a la utilizada para la desinfección acuífera. De cualquier manera y puesto que la contaminación del agua y de los alimentos no requiere de mecanismos tan sofisticados como la aerolización, esta vía de transmisión del botulismo continúa representando una amenaza de ataque a pequeña escala (Burrows, 1999).

Por otra parte, cualquier brote epidémico de botulismo debe originar sospechas sobre su posible origen bioterrorista, particularmente cuando implique a un gran número de enfermos, o bien, cuando se deba a algún serotipo de BoNT poco común en humanos (C, D, F, G) (Franz, 1997).

COMENTARIOS FINALES

- Desafortunadamente, la ingeniería genética puede estar siendo considerada como recurso, tanto para incrementar la virulencia de las bacterias contempladas como armas biológicas, cuanto para disminuir la susceptibilidad de esos microorganismos a los diversos antibióticos.
- Si bien todas las armas biológicas pueden ser dispersadas en forma de aerosoles, es condición ineludible que las partículas implicadas presenten un diámetro de 1 a 10 μm , para que puedan permanecer suspendidas durante varias horas y, en caso de ser inhaladas, para que penetren hasta los bronquiólos distales y los alvéolos terminales de los individuos (Arnon, 2001; Redy, 2001).
- Las condiciones meteorológicas que imperan en el área del “blanco” también resultan determinantes para la dispersión aérea de las armas biológicas: la alta velocidad del viento y las turbulencias suelen romper las nubes de aerosol y, así mismo, las altas humedades provocan que las partículas aumenten de

peso y se proyecten hacia el suelo, con muy pocas probabilidades de que en el corto plazo se resuspendan en el aire (Franz, 1997).

- La oportuna detección de armas biológicas en el ambiente permitiría que las personas se protegieran de la inhalación, cubriéndose la boca y nariz con algún pañuelo, ropa u otras telas (prendas que posteriormente se incinerarían) y asepticando con hipoclorito la superficie de los objetos materiales. Estas acciones podrían complementarse iniciando un régimen profiláctico-terapéutico con antibióticos de amplio espectro (Arnon, 2001; Friedländer, 2001).
- El laboratorio podría detectar esporas de ántrax o BoNT en la mucosa nasal de algunos individuos “blanco”, aunque ello sólo sería posible durante las primeras 24 h posteriores a la inhalación, lapso durante el cual no aparece síntoma alguno.
- La obtención de algunos resultados de laboratorio que sugieran la presencia de ántrax requiere de por lo menos 18-24 h, tiempo necesario para que *Bacillus anthracis* desarrolle en medios sólidos evidenciando sus particulares características macroscópicas.
- La detección de BoNT en muestras clínicas y en alimentos o bebidas sospechosos se podría realizar en 8-10 h mediante las pruebas de ELISA y PCR; sin embargo, la prueba oficial continúa contemplando la inoculación de numerosos ratones por cada espécimen a analizar (Kimura, 2001).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arnon S.S., Schechter R., Inglesby T.V., Henderson D.A., Bartlett J.G., Ascher M.S., Eitzen E., Fine A.D., Hauer J., Layton M., Lillibrigde S., Osterholm M.T., O'Toole T., Parker G., Perl T.M., Russell P.K., Swerdlow D.L. and Tonat, K.: Botulinum toxin as a biological weapon, *JAMA*, 2001; 285(8):1059-1070.

Bradley K.A., Mogridge J., Mourez M., Collier R.J. and Young J.A.T.: Identification of cellular receptor for anthrax toxin, *Nature*, 2001; 414:225-229.

Burrows W.D. and Renner S.E.: Biological warfare agents as threats to potable water, *Environ. Health Perspect.*, 1999; 107(12):975-984.

Butler D.: Bioweapons treaty under treat, *Nature*, 2001; 413: 657.

Chensue S.W.: Pathologist angle for anthrax, *Am J Pathol*, 2003, 163:1699-1702.

Collins M.D. and East A.K.: Phylogeny and taxonomy of the food-borne pathogen *Clostridium botulinum* and its neurotoxins, *J Appl Microbiol*, 1998; 84: 5-17.

Dennis C.: Could our knowledge of microbial genomics and skill in genetic engineering be used to create "enhanced" bioweapons?, *Nature*, 2001; 411: 232-235.

Franz D.R., Jahrling P.B., Friedländer A.M., McClain D.J., Hoover D.L., Bryne W.R., Pavlin J.A., Christopher G.W. and Eitzen E.M.: Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents, *JAMA*, 1997; 278(5):399-411.

Friedländer A.M.: Antibiotic development is the first priority in responding to terrorist use of anthrax. But structural studies offer new leads in the hunt for more effective anti-toxin treatments, *Nature*, 2001; 414: 160-161.

Kimura B., Kawasaki S., Nakano H. and Fujii T.: Rapid, Quantitative PCR monitoring of growth of *Clostridium botulinum* type E in modified-atmosphere-packaged fish, *Appl Environ Microbiol*, 2001; 67(1):206-216.

Lacy D.B and Collier R.J.: Structure and function of anthrax toxin, *Curr Top Microbiol Immunol*, 2002; 271:61-85.

Mock M. and Fouet A.: ANTHRAX, *Microbial*, 2001, 55:647-671.

Redy T.: Bioterrorism threat becomes reality, *Nature Medicine*, 2001; 7:1167-1168.

Shapiro R.L., Hatheway C., Becher J. and Swerdlow D.L.: Botulism surveillance and emergency response, *JAMA*, 1997; 278(5):433-435.

Simon J.D.: Biological terrorism, *JAMA*, 1997; 278(5):428-430.

Wictome M., Newton K., Jameson K., Hallis B., Dunnigan P., Mackay E., Clarke S., Taylor R., Gaze J., Foster K. and Shone C.: Development of an in vitro bioassay for *Clostridium botulinum* type B neurotoxin in foods that is more sensitive than the mouse bioassay, Appl Environ Microbiol, 1999; 65(9):3787-3792.

- 1) Schiavo G., Matteoli M. y Montecucco C.: Neurotoxins affecting neuroexocytosis, *Physiol. Rev.*, 2000; 80(2):717-766.
- 2) Shapiro R. L., Hatheway C. y Swerdlow D. L.: Botulism in the United States: A clinical and epidemiologic review, *Ann. Intern. Med.*, 1998; 129(3):221-228.
- 3) Najib A., Pelliccioni P., Gil C. y Aguilera J.: Clostridium neurotoxins influence serotonin uptake and release differently in rat brain synaptosomes, *J. Neurochem.*, 1999; 72:1991-1998.
- 4) Maksymowych A. B., Reinhard M., Malizio C. J., Goodnough M. C., Johnson E. A. y Simpson L. L.: Pure botulinum neurotoxin is absorbed from the stomach and small intestine and produces peripheral neuromuscular blockade, *Infect. Immun.*, 1999; 67(9):4708-4712.
1. Bhatnagar R. and Batra S.: Anthrax toxin, *Microbiol*, 2001; 27(3): 167-200.
2. Birmingham K. and Kenyon G.: Smallpox vaccine development quickened, *Nature Medicine*, 2001; 7:1167-1168.
3. Brookmeyer R. and Blades N.: Prevention of inhalational anthrax in the U.S Outbreak, Department of Biostatistics, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, USA, 2003.
4. Brossier F. and Mock M.: Toxins of *Bacillus anthracis*; *Toxicon*, 2001, 39:1747-1755.
5. Brossier F., Weber-Levy M., Mock M. and Sirard J.C.: Role of toxin functional domains in anthrax pathogenesis, *Infect Immunol*, 2000; 68(4):1781-1786.
6. Cyranosky D.: Gaps remain in Japan's biodefences, *Nature*, 2001; 413:658.
7. Dalton R.: Genetic sleuths rush to identify anthrax strains in mail attacks, *Nature*, 2001; 413:657-658.
8. Dalton R.: Pathogen threat spurs research initiatives, *Nature*, 2001; 411:727-728.
9. Dickson D.: Iraq crisis spurs new bioweapons moves, *Nature*, 1998; 391:831.
10. Dorey E.: US rejects stronger bioweapons treaty, *Nature Biotechnology*, 2001; 19:793.
11. Dove A.: Smallpox stocks: new focus for research?; *Nature*, 1999; 5: 727-732.
12. Drum C.L., Yan S., Bard J., Shen Y., Lu D., Soelaiman S., Grabarek Z., Bohm A., and Tang W.: Structural basis for the activation of anthrax adenyl cyclase exotoxin by calmodulin, *Nature*, 2002; 415:397-402.
13. Fox J.L.: Adjusting FDA policies to address bioterrorist threat, *Nature Biotechnology*, 1999; 17:323-324.
14. Knight J.: Senators call for biodefence boost, *Nature*, 2001; 413:441-442.

15. Leppla S.H.: A dominant – negative therapy for anthrax, *Nature Medicine*, 2001; 7:659-660.
16. Mock M. and Mignot T.: Anthrax toxins and the host: a story of intimacy, *Cellular Microbiology*, 2003, 5:1-15.
17. Mourez M., Kane R.S., Mogridge J., Metallo S., Deschatelets P., Sellman B.R., Whitesides G.M. and Collier R.J.: Designing a polyvalent inhibitor of anthrax toxin, *Nature Biotechnology*, 2001; 19:958-961.
18. Seelos C.: Lessons from Iraq on bioweapons.: There are strong political pressures to relax the security of suspected biological weapons activity in Iraq, *Nature*, 1999; 398:187-188.
19. Shieh W.J., Guarner J., Paddock C., Greer P., Tatti K., Fischer M., Layton M., Philips M., Bresnitz E., Quinn C.P., Popovic T., Perkins B.A. and Zaki S.R.: The critical role of pathology in the investigation of bioterrorism – related cutaneous anthrax, *American Journal of Pathology*, 2003, 163:1901-1910.
20. Starnbach M.N. and Collier R.J.: Anthrax delivers a lethal blow to host immunity, *Nature Medicine*, 2003; 9(8):996-998.