



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

LAS BACTERIAS COMO ARMAS BIOLÓGICAS

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA:
ARANZA JASIEL GAVIA GUTIÉRREZ**

ASESOR: BENJAMÍN RUIZ LOYOLA



Ciudad Universitaria, CD. MX. 2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

1. Introducción	3
2. Antecedentes	5
2.1 ¿Cómo es una bacteria?	7
2.1.1 Clasificación bacteriana	7
2.2 ¿Qué son las armas biológicas?	9
2.3 Antecedentes históricos de utilización de Armas Biológicas.....	11
2.4 Tratados para la prohibición de Armas biológicas en la historia	20
2.4.1 El Código Lieber	20
2.4.2 Conferencia Internacional de Paz.....	21
2.4.3 El protocolo de Ginebra	21
2.4.3 La Convención de Armas Biológicas (CABT)	22
2.4.4 El Grupo Australia	25
2.4.5 Protocolo de Cartagena.....	25
2.5 Criterios para considerar un microorganismo como arma biológica.....	27
3. Las Bacterias como Armas Biológicas	33
3.1 <i>Bacillus anthracis</i>	35
3.2 <i>Clostridium Botulinum</i>	41
3.3 <i>Yersinia pestis</i>	46
3.4 <i>Francisella tularensis</i>	52
3.5 <i>Brucella spp.</i>	58
3.6 Toxina ϵ de <i>Clostridium perfringens</i>	65
3.7 <i>Salmonella spp.</i>	71
3.8 <i>E. coli</i> O157:H7	76
3.9 <i>Shigella spp.</i>	82
3.10 <i>Burkholderia mallei</i>	87
3.11 <i>Burkholderia pseudomallei</i>	91
3.12 <i>Chlamydia psitacci</i>	95
3.13 <i>Coxiella burnetii</i>	100
3.14 Enterotoxina B de <i>Staphylococcus spp.</i>	105
3.15 <i>Vibrio cólera</i>	110
4. Riesgos y perspectivas a futuro	115
5. Conclusión	118
6. Referencias Bibliográficas	120

1. Introducción

Los microorganismos han sido la única forma de vida en la tierra durante la mayor parte de su historia. Las bacterias son microorganismos que se encuentran en la tierra desde hace miles de millones de años y han estado en constante evolución desde entonces.

Los seres humanos siempre han tenido una estrecha relación con las bacterias y durante muchos años cualquier situación que implicara interactuar con microorganismos como pequeñas formas de vida, generó una serie de inquietantes preguntas, desde como surgen, cuantas bacterias existen, el nivel de daño o beneficio que pueden ocasionarnos y si podríamos sobrevivir sin ellas.

Es probable que en la naturaleza existan más de un millón de especies microbianas. La mayoría de los microorganismos se desarrollan independientemente, sin interactuar con otros organismos, aunque varios establecen relaciones beneficiosas mediante estrechas asociaciones con plantas y animales, incluyendo al hombre¹.

Sin embargo, también existen microorganismos que pueden transmitir enfermedades o ser usados como armas biológicas con capacidad de afectar la salud de los humanos de diversas formas. Hay más de 1,200 tipos de agentes biológicos, también conocidas como armas bacteriológicas, que no solo provocan enfermedades y la muerte, sino que constituyen una amenaza para la contaminación del medio ambiente por lo que se considera como el arma más destructiva conocida para la humanidad².

El trabajo monográfico presentado aborda la situación de las bacterias como microorganismos que no dejan de sorprendernos, al mostrarnos como es que siendo realmente pequeños tienen un alto impacto en los seres vivos. En palabras de uno de los fundadores de la microbiología moderna, el eminente científico francés Louis Pasteur mencionó: “En la naturaleza, el papel de lo infinitamente pequeño es infinitamente grande”³.

El interés de este trabajo viene dado por la fama que suelen tener las bacterias al ser vistas como un peligro en el que su único objetivo es enfermarnos y causar la muerte en el peor de los casos. Por ello el objetivo de este trabajo es crear conciencia de que los microorganismos específicamente las bacterias nos otorgan beneficios o daños perjudiciales potenciales según sea su uso y no sólo a nosotros como seres humanos sino también a las plantas y a los animales.

No obstante, este trabajo se suma al conocimiento que hay hasta ahora, de cómo las armas biológicas son un tema que sigue preocupando a las sociedades en general y las medidas que se han tomado hasta el momento para evitar que haya atentados a la salud mediante el uso de algunos microorganismos.

Se ha organizado de tal manera para que el lector entienda primeramente como es una bacteria, siguiendo a qué es un arma biológica a la par de una revisión histórica, así como cuáles son los criterios que se deben considerar para que un microorganismo pueda determinarse como arma biológica, las bacterias que son usadas como armas biológicas, su morfología, patogenia, modo de transmisión, las enfermedades que pueden causar, método de diagnóstico y tratamiento para las enfermedades que causan, así como las medidas de control que se deben tomar para prevenirlas y finalmente el papel que tenemos como sociedad y principalmente para las personas que nos dedicamos al área científica en relación a saber cómo actuar y estar preparados ante un ataque de tipo biológico.

Cabe destacar que toda información presentada se muestra con total imparcialidad y objetividad, dándole sobre todo un enfoque científico y social.

2. Antecedentes

Imagine el asombro que sintió el gran Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) cuando observó “pequeños animálculos” a través de su microscopio y fue en 1676 cuando mientras examinaba infusiones de pimienta observó a las bacterias, fue tal su interés que describió sus observaciones mediante cartas a la Royal Society de Londres para más tarde ser publicadas en 1684 traducidas al inglés. Casi un siglo después, el botánico y gran microscopista Ferdinand Cohn (1828-1898) llevó a cabo los primeros experimentos en donde descubrió la resistencia de las bacterias al calor, un importante grupo que ahora conocemos como endosporas. Cohn describió el ciclo de vida completo de *Bacillus*, la cual es una bacteria formadora de endosporas (células vegetativas → endosporas → células vegetativas), y observó que las células vegetativas de *Bacillus* morían por ebullición, pero no las endosporas. Esta aportación contribuyó al desarrollo de la bacteriología, aportando las bases experimentales para un sistema de clasificación de las bacterias y fundando una importante revista científica sobre biología vegetal y microbiana. Debemos a Cohn haber creado estrategias simples y eficaces para evitar la contaminación de medios de cultivo estériles, como el uso de algodón para tapar los tubos y matraces⁴.

Estos métodos permitieron grandes avances como el aislamiento y la caracterización de bacterias causantes de enfermedades y fueron usados por otros contemporáneos, como fue el caso del fundador de la microbiología médica Robert Koch.

Robert Koch (1843-1910) fue un médico alemán que estudió el carbunco, una enfermedad que afecta tanto a animales como a personas y es originada por una bacteria formadora de endosporas llamada *Bacillus anthracis* la cual estudiaremos más adelante. Koch llevó a cabo experimentos empleando ratones como animales experimentales, mediante los cuales formuló una serie de criterios rigurosos para comprobar que un tipo concreto de microorganismo es el agente etiológico de una enfermedad específica, los cuales se conocerían más adelante como los postulados

de Koch. No solo los postulados fueron una gran aportación de su parte, sino que fue el primero en aislar a *Mycobacterium tuberculosis* y detectar el agente causante de la enfermedad utilizando todos los métodos que había empleado meticulosamente en los estudios previos sobre el carbunco: microscopía, tinción de tejidos, aislamiento en cultivo puro e inoculación en animales. Finalmente, Robert Koch anunció su descubrimiento en 1882 y publicó un gran artículo sobre el tema dos años más tarde, por este importante aporte recibió en 1905 el premio Nobel de fisiología y medicina⁵.

Todos estos descubrimientos junto con los de otros grandes científicos llevaron a resolver cuestiones inquietantes sobre el gran mundo microbiano que nos rodea.

Si indagamos un poco en la historia encontraremos que las enfermedades de ahora no son las mismas que las de hace 100 o 200 años, debido a que en aquel entonces las principales causas de muerte se debían a las enfermedades infecciosas, las cuáles son causadas por microorganismos patógenos; la peste, la gripe, neumonía, tuberculosis y gastroenteritis son ejemplos de enfermedades que cobraron la vida de cientos de miles de personas, en cambio la mortalidad en las últimas décadas se ha relacionado a su vez con enfermedades coronarias, cáncer, diabetes y enfermedades pulmonares.

Además, una ventaja que ha desarrollado nuestra especie como forma de defensa ha sido: la diversidad genética. Esta diversidad genética hace que no todos tengamos la misma susceptibilidad a los agentes infecciosos, con el objetivo de que siempre queden personas que se recuperen de las diferentes enfermedades infecciosas, aunque la mortalidad sea elevada⁶.

Actualmente las enfermedades infecciosas son mucho menos letales en comparación con las del siglo pasado y se ha logrado controlarlas por medio de mejoras sanitarias en las prácticas de salud pública, los procesos de dichas enfermedades y por el uso de agentes antimicrobianos, al menos en los países desarrollados⁷. Sin embargo, en los países en vías de desarrollo sigue siendo una amenaza latente algunos microorganismos que pueden afectar la supervivencia y ser un peligro real para las poblaciones de seres vivos en general.

Consideremos otro punto muy importante, las enfermedades emergentes que pueden surgir de un momento para otro, más la creciente y preocupante resistencia a los antibióticos por parte de algunos microorganismos patógenos, hacen que suene sencillo verlos como algo que es necesario erradicar y además cabe considerar el aspecto que buscamos abordar objetivamente: la amenaza de que sean empleados en actos de bioterrorismo.

Tomando esto en cuenta, empezaremos por hablar sobre cómo son las bacterias y como se pueden clasificar de acuerdo con varios criterios.

2.1 ¿Cómo es una bacteria?

Las bacterias son las células más pequeñas. Algunas pueden medir 0,1 – 0,2 μm de diámetro mientras que las más grandes pueden medir varias micras de longitud. La mayoría de las especies miden aproximadamente 1 μm de diámetro y sólo se visualizan con el microscopio óptico cuya resolución es de 0,2 μm . En contraste, las células de las plantas y animales son mucho más grandes, con diámetros que oscilan entre 0,7 μm (eritrocito) y varios milímetros (la longitud de algunas células nerviosas). Las bacterias han sufrido cambios en la estructura y función para adaptarse a muchas condiciones⁸. Esto nos dará la pauta para saber más adelante porque las bacterias pueden ser usadas para otros fines.

2.1.1 Clasificación bacteriana

Las bacterias se pueden clasificar de acuerdo con su aspecto macroscópico y microscópico, por el crecimiento y las propiedades metabólicas características, por su antigenicidad y, por último, por su genotipo. Las bacterias crecen en colonias y cada una de ellas sería semejante a una ciudad con un millón o más de organismos. El aspecto microscópico, incluido el tamaño, y la morfología de los microorganismos (cocos, bacilos, curvos, espirales), son un modo de distinguir a las bacterias. En cuanto a la identificación de una bacteria, se suele comenzar determinando si es grampositiva o gramnegativa, la tinción de Gram es una prueba rápida y sencilla para distinguir entre estas dos clases fundamentales de bacteria. De manera general las bacterias grampositivas se diferencian de las gramnegativas en la estructura de la pared celular y en sus componentes y funciones. Los componentes

de la pared celular son exclusivos de bacterias, y su estructura repetitiva desencadena respuestas inmunitarias innatas protectoras en el ser humano⁹. Otra distinción entre las bacterias se puede realizar en función de las características de crecimiento en distintos nutrientes y medios de cultivo selectivos.

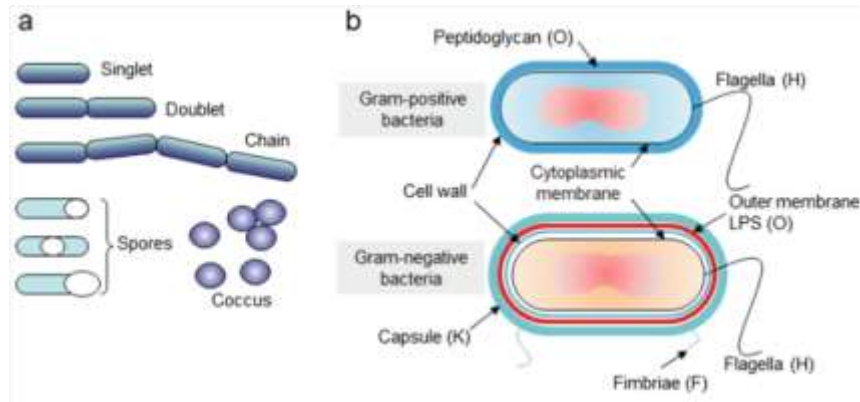


Figura 1. Células bacterianas, (a) Morfología, (b) Diferencias estructurales en bacterias Grampositivas y Gramnegativas. Fuente: Bhunia AK. Patógenos microbianos transmitidos por los alimentos: mecanismos y patogénesis [En línea]. New York: Springer; 2018. [Consultado: 19 de enero de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7349-1>

Una cepa concreta de bacterias se puede distinguir usando anticuerpos que detectan antígenos característicos en la misma (serotipado). Estas pruebas serológicas se pueden utilizar también para identificar organismos difíciles (*Treponema pallidum*, bacteria responsable de la sífilis) o muy peligrosos (Como *Francisella*, bacteria responsable de la tularemia, la cual mencionaremos más adelante), para cultivarlos en el laboratorio, que se asocian a un síndrome patológico específico (por ejemplo, el serotipo O157 de *Escherichia coli* responsable de la colitis hemorrágica del cual también mencionaremos posteriormente) o que se deban identificar con gran rapidez (por ejemplo: *S. pyogenes*, responsable de la faringitis estreptocócica). El serotipado se emplea también para subdividir a las bacterias por debajo del nivel de la especie con fines epidemiológicos. Finalmente, el método más exacto para organizarlas es con el análisis de su material genético. Por medio de técnicas donde se incluyen la hibridación del ADN, la amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y otras técnicas relacionadas se puede llevar a cabo la detección de secuencias del ADN con características

específicas. La ventaja de estas técnicas es que no necesitan bacterias vivas o en crecimiento y se pueden utilizar para la detección e identificación rápida de microorganismos de crecimiento lento, como micobacterias y hongos, o para analizar muestras patológicas, incluso de cepas muy virulentas¹⁰.

No obstante, después de conocer de manera general como es una bacteria, abordaremos que influencia tienen dentro de las armas biológicas, éstas a su vez parten de una categoría más grande, la cuales son: las armas de destrucción masiva (ADM). Las ADM consisten en armas biológicas, químicas, nucleares y radiológicas, así como sus medios para llegar hasta el objetivo final¹¹. El objetivo de este tipo de armas es tener un alto nivel de daño en una gran cantidad de individuos. A continuación, profundizaremos en esta pregunta.

2.2 ¿Qué son las armas biológicas?

Las armas biológicas han sido usadas por el hombre desde tiempos inmemoriales y hasta la actualidad, ya sea como un método de defensa o bien como forma de ataque hacia algún enemigo en particular.

En 1975 la Convención sobre Armas Biológicas las definió como:

1. "Microbios u otros agentes biológicos, o toxinas cualquiera sea su origen o método de producción, de tipos y en cantidades que no tienen justificación para fines profilácticos, protectores u otros fines pacíficos;
2. Armas, equipos o medios de entrega diseñados para usar dichos agentes o toxinas con fines hostiles o en conflictos armados"¹².

De acuerdo con la Oficina de Naciones Unidas en Ginebra (UNOG), las armas biológicas son: "sistemas complejos que diseminan organismos o toxinas que causan enfermedades para dañar o matar humanos, animales o plantas. Generalmente consisten en dos partes: un agente armado y un mecanismo de entrega" Casi cualquier organismo causante de enfermedades (como bacterias, virus, hongos, priones o rickettsias) o toxinas (venenos derivados de animales, plantas o microorganismos), o sustancias producidas sintéticamente pueden usarse en armas biológicas¹³.

A pesar de que en épocas remotas no se tenía un conocimiento científico de su aplicación, sí se contaba con la experiencia sobre los resultados que implicaba el uso de agentes infecciosos para hacer daño y que éstos lograran efectos similares a los de las grandes epidemias. Desde entonces el riesgo de que los microorganismos sean usados como armas biológicas ha generado incertidumbre y pánico en las grandes sociedades y hace que se plantee la incógnita sobre su uso de una forma bélica. Cabe destacar que estos agentes biológicos comparten las siguientes características¹⁴:

- **Infectividad:** Es la habilidad de un agente de penetrar, sobrevivir y multiplicarse en un huésped. Se expresa como la proporción de personas expuestas a una dosis dada que se infectan.
- **Virulencia:** Es la importancia relativa de la enfermedad causada por un microorganismo. Se expresa como la proporción del número de casos clínicos por sobre el número de huéspedes infectados.
- **Letalidad:** Es la capacidad de un agente para causar mortalidad en una población infectada.
- **Patogenicidad:** Es la capacidad de un microorganismo de provocar enfermedad. Se expresa como la proporción entre el número de casos clínicos sobre el número de personas expuestas.
- **Período de incubación:** Es el intervalo de tiempo entre la exposición a un agente infectante y la primera ocurrencia de signos y síntomas de enfermedad.
- **Contagiosidad:** Número de casos secundarios (de aquellas infecciones que son contagiosas) que siguen a la exposición de un caso primario en relación con el número total de contactos secundarios susceptibles expuestos.
- **Estabilidad:** Habilidad de un agente para sobrevivir a los factores ambientales.

Las armas biológicas son mucho más fáciles de producir, manipular y transportar que las armas nucleares o convencionales, además de que resultan mucho más accesibles en cuanto a costo. Selon Joshua Lederberg, premio Nobel de Fisiología

y Medicina afirmó ya en 1956 que: “los microorganismos son la bomba atómica de los pobres”. Haciendo una comparación entre los costes de producción y el alcance que proporcionan la diferente tipología de armamento, destacando el bajo coste de las armas químicas y biológicas frente a las nucleares o convencionales, ya que la posibilidad de afectar en 1000m² tiene un coste de 600 dólares con armas químicas y 1 dólar con armas biológicas, frente a los 2.000 dólares que costaría con armas convencionales y los 800 con armas nucleares¹⁵.

Las armas biológicas pueden ser utilizadas por organizaciones terroristas principalmente o por grupos no estatales, esto nos lleva de la mano directamente con otro concepto importante: el bioterrorismo. Hablar de bioterrorismo puede sonar alarmante sin embargo es una realidad que se presenta desde muchos siglos atrás.

El bioterrorismo es un término empleado para el uso intencional de cepas patógenas de microorganismos para causar enfermedades o la muerte de seres vivos y/o dañar el medio ambiente. Estos agentes generalmente se pueden encontrar en la naturaleza, pero es probable que puedan modificarse para hacer mayor su capacidad de provocar enfermedades, aumentar su resistencia a los medicamentos actuales o aumentar su capacidad de propagarse al medio ambiente. El bioterrorismo cubre un amplio espectro de preocupaciones, desde terrorismo catastrófico con bajas masivas hasta micro eventos que usan baja tecnología pero que producen disturbios civiles, trastornos, enfermedades, discapacidades y muerte. El objetivo del bioterrorismo no es solo causar mortalidad y morbilidad, sino también conducir a un colapso social y político¹⁶.

2.3 Antecedentes históricos de utilización de Armas Biológicas

Desde la antigüedad el hombre ha tenido miedo a enfermarse, no sólo por desconocer la naturaleza infecciosa de las enfermedades, sino porque ignoraba cómo se producían y cuáles eran los mecanismos de infección. Aun cuando se conseguían éxitos en el control de muchas enfermedades transmisibles, los conocimientos adquiridos también servían para la utilización ilegítima de los agentes biológicos, al inicio con fines bélicos o criminales y en la actualidad con fines terroristas¹⁷.

Históricamente al estudiar sobre los agentes y armas biológicas es inevitable abordar su evolución a lo largo de la historia para hacer más comprensible su uso y su entorno actual a través de ese avance. A pesar de que no es sencillo identificar un tiempo exacto de cuando comenzó el uso de armas biológicas, la humanidad ha estado interesada en desarrollar armas biológicas y tóxicas con las que pretendía reducir a sus enemigos. Se pueden encontrar distintos ejemplos del uso de armas biológicas, para dañar a un individuo y su entorno directa o indirectamente. El primer caso que podemos señalar es el de los asirios en el siglo VI a.C., que solían utilizar la ergotamina, un hongo producido por el cornezuelo del centeno con efectos similares al LSD para envenenar los pozos enemigos. En la misma época, los arqueros egipcios utilizaban flechas infectadas sumergidas en cuerpos descompuestos o en sangre contaminada. Otra civilización antigua como los Escitas también utilizaban flechas cubiertas de heces en sus guerras. En la literatura, griega, persa y romana a partir del año 300 a.C. encontramos ejemplos del uso de animales muertos para contaminar fuentes de agua y pozos de los enemigos en sus campañas militares. Ya en el año 190 a. C. en la batalla del río Eurymedon, el General cartaginés Aníbal ordenó despedir contra barcos del rey Eumenes de Pérgamo, vasijas de cerámica conteniendo serpientes, cuya mordedura era altamente venenosa¹⁸.

Ya en la Edad Media los líderes militares identificaron que las víctimas de las enfermedades infecciosas podrían convertirse en armas por sí mismas¹⁹. En la literatura encontramos varios sucesos que ocurrieron entre 1340 y 1863 en los que se usaron agentes biológicos con fines bélicos.

Tabla 1. Incidentes en los que se usaron agentes biológicos con fines de guerra.

Año	Incidente
1340	Jean, duque de Normandía, asedió el castillo de Thun l'evêque. Caballos muertos fueron catapultados sobre el muro al castillo. Jean Froissart describió el suceso basado en el testimonio de participantes de ambos lados.
1346	Cadáveres frescos de las víctimas de la peste son catapultados por los mongoles a la ciudad genovesa de Kaffa (ahora Feodosija, Ucrania) en la costa de Crimea. Hubo 85,000 muertes por peste en la región. Los mongoles abandonan el asedio. Evento relatado en 1348-1349 por el italiano Gabriele de 'Mussi.
1500	Francisco Pizarro otorgó a los pueblos indígenas de América del Sur ropa contaminada con viruela.
1763	Durante la guerra francesa e india (1754-1767), Sir Jeffrey Amherst, comandante de las fuerzas británicas en América del Norte, sugirió el uso deliberado de la viruela para "reducir" las tribus nativas americanas hostiles en el fuerte Pitt. El Capitán Simeon Ecuier (uno de los subordinados de Amherst), adquirió mantas contaminadas con viruela y en un falso gesto de buena voluntad los distribuyó a los nativos americanos, generando varios brotes de viruela en varias tribus en el valle del río Ohio.
1775	En Boston, los británicos intentaron propagar la viruela entre las fuerzas continentales inoculando a civiles que huían de la ciudad. En el sur, hay evidencia de que los británicos iban a distribuir esclavos que habían escapado durante las hostilidades y estaban enfermos con viruela, de vuelta a las plantaciones rebeldes para difundir la enfermedad.
1797	Tropas de Napoleón inundaron las planicies alrededor de Mantua, en Italia, para propiciar el brote de Malaria.
1861-1863	El general W.T. Sherman se quejó de que las tropas confederadas en retirada disparaban deliberadamente a los animales de granja en estanques para que sus "cadáveres apestosos" contaminaran los suministros de agua para las fuerzas de la Unión, lo que resulta en tropas debilitadas y desmoralizadas por enfermedades gastrointestinales, a su vez surgieron las acusaciones de que el Dr. Luke Blackburn, un futuro gobernador de Kentucky, intentó infectar la ropa con viruela y luego venderla a las tropas desprevenidas de la Unión.

Fuente: Morse S.A. Microorganismos y Bioterrorismo Agentes Infecciosos y Patogénesis [En línea]. Estados Unidos: Springer; 2006. [Citado: 2020 febrero 10]. Capítulo 2. Perspectivas Históricas de Bioterrorismo Microbiano. Disponible en: https://doi.org/10.1007/0-387-28159-2_2 y Frischknecht F. La historia de la guerra biológica. Rep. EMBO. [En línea] junio 2003. [Consultado: 10 de febrero de 2020]; 4 (Supl.1): [47-52 pp.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1326439/>

Algunas fuentes creen que existe una factible relación entre la epidemia de peste en Kaffa y la Peste Negra que azoto a buena parte de Europa Occidental, durante 6 años, liquidando un tercio de la población europea²⁰.

Mucho tiempo se tardó en esclarecer el vector causante de la Peste Negra, sin embargo, tras años de búsqueda y análisis hoy se estima que: los tártaros (mongoles) no sabían exactamente por qué, pero conocían muy bien que pasaba si una persona sana tenía contacto con un enfermo de la peste. El efecto fue arrasador, ya que las poblaciones de Oriente Medio tenían formadas defensas naturales contra la peste tras siglos de convivir con esta. Los europeos, por su parte, eran terreno virgen para dicha infección al no tener defensas naturales contra la misma y en Europa, la Peste se expandió rápidamente. En segundo lugar, fue a causa de las ratas que viajaban en los barcos mercantes que llegaban desde oriente hacia puertos europeos y cuyas pulgas transferían la bacteria *Yersinia pestis*. No obstante, tanto en el medioevo como en los rebrotes de la peste durante el Renacimiento esto no se sabía ni se entendía, la gente pensaba que la peste era causada por un elemento en el aire denominado *miasma*²¹.

Este término estaba asociado a lo que se pensaba era un “aire maligno” el cual se apoderaba del sistema respiratorio de la víctima y posteriormente de todo su cuerpo, (*miasma* es una palabra extraída del griego. En dicha lengua *miasma* simplemente significaba *contaminación*). Debido a esto, en el renacimiento los médicos manejaron curiosas máscaras con un pico similar al de un pájaro para intentar resguardarse de la peste. Algo digno de mención acerca de la peste bubónica es que las más modernas máscaras de gas hubieran tenido el mismo efecto que aquellas antiguas con forma de pájaro, o sea absolutamente ninguno. La peste bubónica se transmite principalmente por la picadura de una pulga que habita normalmente en las ratas negras, verdaderos vectores de la enfermedad. De manera que, las máscaras anti-plaga eran ineficaces para prevenir la peste porque las pulgas que transmitían la enfermedad podían llegar a añadirse a estas y el médico las llevaría a su hogar mediante la máscara²².



Figura 2. Máscara anti-plaga. Fuente: <https://www.anfrix.com/2007/05/las-aranas-del-rey-pirro-el-primer-bio-ataque-de-la-historia/>



Figura 3. Grabado mostrando a un médico del renacimiento utilizando una de las máscaras anti-plaga con forma de pico de pájaro renacentista. Fuente: <https://www.anfrix.com/2006/12/las-mascaras-de-gas-medievales/>

Los ataques biológicos fueron también trascendentales en el continente americano, se reconoció el uso de armas biológicas en 1518, cuando Hernán Cortés, distribuyó mantas contaminadas con viruela entre los aztecas en México, táctica que también emplearía en 1532 Francisco Pizarro contra los Incas en Perú, consiguiendo así la rápida diseminación del virus. Dado que los nativos de la zona nunca habían estado expuestos a estos gérmenes, la mortalidad fue alta²³.

De acuerdo con Carus desde el siglo XX en adelante también se han presentado distintos sucesos en los que se utilizaron agentes biológicos y refiere criterios específicos para confirmar que se utilizó un agente biológico en un evento criminal, terrorista o patrocinado por el estado. La mayoría de los incidentes en los que se ha confirmado el uso de un agente biológico se enumeran en la siguiente tabla.

Tabla 2. Incidentes confirmados en los que se usaron agentes biológicos de 1900-2003		
Año	Incidente	Tipo
1910	Patrick O'Brien de Lacy y Vladimir Pantchenko (médico) fueron condenados en San Petersburgo, Rusia, por asesinar al capitán Vassilli Buturlin (cuñado de De Lacy) por inyección con toxina diftérica.	Criminal

1909-1918	Henri Girard usó <i>S. typhi</i> y hongos venenosos para asesinar a las personas a quienes vendió pólizas de seguro para obtener los beneficios por muerte. Fue responsable de matar a dos personas; otros seis se recuperaron después de ser infectados o envenenados. Girard estaba estudiando bacteriología en el momento del primer asesinato.	Criminal
1913	Karl Hopf infectó a su tercera esposa con <i>V. cholerae</i> y <i>tifus</i> . Asesinó a su padre, dos de sus hijos y su primera esposa con arsénico. También fue acusado de intentar envenenar a su segunda y tercera esposa y a su madre. Hopf tenía entrenamiento en manejo de drogas Fue condenado en un tribunal alemán.	Criminal
1915-1918	El Servicio Secreto alemán instituyó una campaña encubierta de guerra biológica en los Estados Unidos durante la primera parte de la Primera Guerra Mundial, mientras que Estados Unidos aún era neutral. Utilizaron <i>B. mallei</i> (muermo) y <i>B. anthracis</i> (ántrax) para infectar caballos y mulas que los Aliados compraron en los Estados Unidos para que sus fuerzas los usaran en Europa. En Rumania, infectaron ovejas con destino a Rusia con muermo y ántrax. En Argentina, infectaron ovejas, vacas y caballos con muermo y ántrax que se enviaban a Gran Bretaña y al Ejército Indio. Supuestamente utilizaron <i>B. mallei</i> y <i>V. cholerae</i> contra las fuerzas aliadas durante la retirada alemana.	Estado
1916	Arthur Warren Waite era un dentista que había hecho intentos serios de adquirir patógenos virulentos. Mató a su suegra poniendo microorganismos patógenos en su comida. Cuando un intento de matar a su suegro usando patógenos no tuvo éxito, lo envenenó con arsénico.	Criminal
1932	La Asamblea General de la Liga de la Nación estableció la Comisión Lytton en diciembre de 1931 para investigar la conquista de Manchuria por parte de Japón. Cuando los comisionados visitaron Manchuria en 1932, los japoneses les sirvieron fruta "mezclada" con <i>V. cholerae</i> . Nadie se enfermó.	Estado
1933	El Dr. Taranath Bhattacharyna era un médico con formación en bacteriología. Él y Benoyendra Chandra Pandey asesinaron a Amarendra Pandey (medio hermano de Benoyendra), de 20 años, con una dosis letal de <i>Y. pestis</i> después de una disputa por la división de la herencia de su padre.	Criminal
1936	El Dr. Tei-Sabro Takahashi era un médico japonés que utilizaba alimentos contaminados con <i>S. typhi</i> para infectar a 17 personas, incluidas tres que murieron posteriormente. Los incidentes involucraron a médicos en competencia, sus familias y su esposa.	Criminal
1939	La Dra. Kikuko Hirose, una médico japonés, le dio pasteles contaminados con <i>S. typhi</i> y <i>S. paratyphi</i> a su exesposo, quien, a su vez, los compartió con otros, 12 personas enfermaron y una persona murió.	Criminal
1932-1945	Japón realizó investigaciones de armas biológicas en instalaciones en China (por ejemplo, la Unidad 731). Los presos se infectaron con agentes patógenos como <i>B. anthracis</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>Y. pestis</i> y <i>Shigella</i> spp. Entre 1932 y 1945, más de 10,000 prisioneros murieron como resultado de una infección experimental o ejecución después de la experimentación. Al menos 11 ciudades chinas fueron atacadas con armas biológicas rociadas desde aviones o introducidas en suministros de agua o alimentos. Las pulgas infectadas por la peste fueron liberadas desde los aviones sobre las ciudades chinas para iniciar epidemias de peste.	Estado

1952	La organización guerrillera de insurgentes keniatas <i>Mau Mau</i> usó la toxina vegetal del arbusto de leche africano (<i>Synadenium grantii</i>) para matar ganado en lo que ahora es Kenia.	Terrorista
1964	El Dr. Mitsuru Suzuki, un médico japonés con formación en bacteriología, fue arrestado por infectar a cuatro colegas con un bizcocho contaminado con disentería. Posteriormente fue vinculado a una serie de brotes de fiebre tifoidea y disentería que involucraron aproximadamente 200 personas, incluidas cuatro muertes. Los fiscales afirmaron que hizo esto para completar su disertación, que involucró estudios de <i>S. typhi</i> recuperados de numerosas personas. Una cepa de <i>S. typhi</i> fue robada del NIH de Japón; se aisló otra cepa de un paciente infectado.	Criminal
1970	Eric Kranz, un estudiante de posgrado en parasitología en el MacDonald College, infectó a cuatro de sus compañeros de cuarto usando alimentos contaminados con grandes cantidades de óvulos embrionados de <i>Ascaris suum</i> , un gusano parásito encontrado en cerdos. Los individuos infectados presentaron síntomas y signos de enfermedad del tracto respiratorio inferior, el más grave es la insuficiencia respiratoria aguda.	Criminal
1977	Arnfinn Nesset, ex enfermero noruego, quien dirigía un hogar de ancianos en Noruega, fue declarado culpable de asesinar a 22 de sus pacientes al inyectarles cloruro de suxametonio, una droga relajante muscular.	Criminal
1978	La policía secreta búlgara intentó asesinar a Vladimir Kostov, un desertor búlgaro que había servido como corresponsal de noticias y también era un importante en el D.S. (equivalente búlgaro al K.G.B.). Se inyectó en Koslov una pequeña bolita de metal que contenía ricina, quien posteriormente se enfermó pero no murió.	Estado
1978	En Londres, la policía secreta búlgara asesinó a Georgi Markov, un disidente búlgaro y locutor de Radio Free Europe. Fue asesinado por la ricina contenida en una pequeña bolita de platino-iridio que se inyectó en la parte posterior de su muslo por medio de una punta de paraguas modificada. Murió 4 días después.	Estado
1981	Un grupo que se hacía llamar "Dark Harvest" fue responsable de dejar un paquete de tierra en los terrenos del Establecimiento de Defensa Química ubicado en Porton Down, Inglaterra. Al hacerlo, afirmaron que estaban devolviendo "semillas de muerte" a su fuente. El grupo afirmó que el suelo era parte de una mayor cantidad (300 libras) removida de la isla Gruinard, donde se realizaron pruebas de bombas de ántrax en 1941. También declararon que los microbiólogos de dos universidades y locales participaron en la remoción del suelo. El análisis mostró que el suelo contenía <i>B. anthracis</i> (aproximadamente 10 organismos / gramo de suelo).	Terrorista
1984	El culto religioso Rajneeshes, emplearon agentes biológicos contra los habitantes de Dallas, Oregón, en un intento de influir en la votación del gobierno local. En el primer incidente, dos comisionados del condado que visitaron la comuna recibieron agua potable contaminada con <i>S. Typhimurium</i> , ambos se enfermaron. Más tarde, miembros del culto contaminaron barras de ensaladas, aderezos para ensaladas y cremas de café en restaurantes locales con <i>S. Typhimurium</i> . Como resultado, 751 personas se enfermaron. También se hicieron intentos para contaminar el sistema de agua. Los discos de Bactrol que contienen <i>S. Typhimurium</i> se obtuvieron legítimamente de VWR Scientific en Seattle para su uso en el laboratorio con licencia estatal de su clínica médica. Más tarde fue	Terrorista

	trasladado a un laboratorio clandestino donde se cultivaron grandes cantidades.	
1990-1995	El Aum Shinrikyo es un culto religioso que fue responsable de la difusión de gas sarín en 1995 en el sistema de metro de Tokio. El culto afirmó que tenían 10.000 miembros y activos \geq \$ 300 millones de dólares. El culto también estuvo involucrado en actividades de guerra biológica que involucraban neurotoxina botulínica, <i>B. anthracis</i> , <i>C. burnetii</i> , e intentó obtener el virus Ébola de Zaire. El grupo intentó utilizar agentes biológicos en aerosol contra nueve objetivos, entre ellos: toxina botulínica (Parlamento de Japón, aeropuerto internacional de Narita, centro de Tokio y metro de Tokio); y ántrax (rociador en el techo del edificio Aum en el este de Tokio, un rociador de camiones alrededor de la dieta en el centro de Tokio, el palacio imperial, Yokohama y la base naval estadounidense en Yokosuka). Ninguno de estos ataques tuvo éxito debido a la selección de la cepa incorrecta o a la conciencia del individuo responsable de llenar los dispositivos de difusión.	Terrorista
1990	Graham Farlow era un interno asintomático VIH positivo en una prisión en Nueva Gales del Sur, Australia. Inyectó a un guardia (Geoffrey Pearce) con sangre contaminada con VIH. El guardia se infectó con el VIH. Farlow murió de SIDA.	Criminal
1992	Brian T. Stewart trabajó como flebotomista en un hospital de St. Louis, MO. Inyectó a su hijo de 11 meses con sangre contaminada con VIH durante una pelea por el pago de manutención infantil.	Criminal
1993	Iwan E era un hombre holandés que inyectó a su ex novia (Gina O) 2,5 ml de sangre contaminada con VIH después de que ella rompiera con él.	Criminal
1994	El Dr. Richard J. Schmidt, un gastroenterólogo casado de Luisiana, inyectó sangre contaminada con VIH a un ex amante. Las pruebas de laboratorio demostraron que ella contrajo la misma cepa de VIH que se encontró en uno de los pacientes del Dr. Schmidt.	Criminal
1995	La Dra. Debora Green, oncóloga, intentó en tres ocasiones matar a su esposo cardiólogo (Dr. Michael Farrar) con ricina en su comida. Cuando estos intentos fallaron, incendió su casa matando a dos de sus tres hijos. Green bebía mucho y parecía sufrir un grave trastorno psiquiátrico.	Criminal
1996	Diane Thompson trabajó en el laboratorio del hospital St. Paul Medical Center en Dallas, TX. Contaminó los pasteles (muffins y rosquillas de arándanos) con <i>S. dysenteriae</i> tipo 2, los colocó en una sala de descanso y envió un correo electrónico al personal del laboratorio que indicaba que había comida disponible en la sala de descanso. Doce personas que trabajaban en el laboratorio se enfermaron después de comer los alimentos contaminados; otra persona se enfermó después de consumir pasteles traídos a casa por uno de los trabajadores del laboratorio. Cuatro de las personas estaban lo suficientemente enfermas como para requerir hospitalización. Un año antes, ella infectó a su novio (John P. Richy) con el mismo organismo. Thompson luego falsificó los resultados de la prueba de laboratorio para que los médicos no se enteraran de su infección. Ella lo infectó nuevamente después de su salida del hospital, y una tercera vez al inyectarlo con microorganismos mientras pretendía tomar una muestra de sangre.	Criminal
1997	Agricultores desconocidos introdujeron deliberadamente e ilegalmente la enfermedad hemorrágica del conejo (un calicivirus) en la isla sur de Nueva Zelanda como una herramienta de control de animales para matar conejos salvajes.	Criminal

2001	Poco después del 11 de septiembre, se enviaron cartas que contenían esporas de <i>B. anthracis</i> a compañías de medios de comunicación y funcionarios gubernamentales que resultaron en 22 casos de ántrax (11 inhalados y 11 cutáneos). Cinco de las personas con ántrax inhalatorio murieron.	Terrorista
2002	Chen Zhengping contaminó la comida en la pastelería de un rival en Tangshan, cerca de Nanjing, con tetramina, una toxina de la lechuga roja. Hasta 300 personas enfermaron y 38 personas murieron.	Criminal
2003	Se encontró una carta firmada como "Ángel Caído" quejándose de las nuevas regulaciones federales de transporte y una amenaza de usar ricina se incluyó en un paquete con un vial que contenía la misma. Además, otra carta dirigida a la Casa Blanca y firmada con el mismo título fue interceptada en un correo externo en una instalación de clasificación. La carta contenía ricina de baja potencia.	Criminal

Fuente: *Vid supra*.

Todos estos ejemplos muestran que personas que tenían al alcance microorganismos patógenos les dieron un uso criminal o terrorista, poniendo en peligro la vida de otras personas, incluso causándoles la muerte, haciendo uso de patógenos mediante la contaminación de alimentos, siendo esto un vehículo importante para el bioterrorismo o bien, siendo portadores de otras enfermedades para la propagación de infecciones como el SIDA, fiebre tifoidea o hepatitis.

Un portador es un individuo infectado con un patógeno, que no muestra signos clínicos de enfermedad. Los portadores son fuentes potenciales de infección para otros y pueden ser individuos en el periodo de incubación de la enfermedad, en cuyo caso el estado portador precede al desarrollo de los síntomas reales. Un ejemplo clásico de portador crónico fue el de una mujer conocida como María la Tífica (su nombre real era Mary Mallon), una cocinera de la ciudad de New York a principios del siglo XX. María trabajaba en una cocina durante una epidemia de fiebre tifoidea en 1906. Las investigaciones revelaron que María estuvo asociada a un número de brotes de tifoideas, probablemente ella debió ser la fuente de infecciones, ya que sus heces contenían gran número de la bacteria responsable de las fiebres tifoideas: *Salmonella typhi*. Durante toda su vida se mantuvo como portadora, probablemente porque su vesícula biliar estaba infectada y continuamente secretaba microorganismos en su intestino. Como rehusó que se le extirpase la vesícula biliar, fue encarcelada. Liberada con la condición de que no volviera a cocinar o a manipular alimentos para otros, Mary desapareció, cambió de nombre y continuó

cocinando en restaurantes e instituciones públicas, portando consigo brotes epidémicos de fiebres tifoideas. Después de varios años, fue de nuevo arrestada y encarcelada y permaneció bajo custodia hasta su muerte en 1938²⁴.

También se pueden abordar muchas contaminaciones de patógenos transmitidas por alimentos no intencionales para determinar las vías para posibles escenarios de brotes con propósito. Un brote en Minnesota en 1985 que afectó a más de 16,000 personas con *Salmonella* resistente a los antimicrobianos supuestamente fue causado por la contaminación cruzada de la leche cruda en un producto lácteo pasteurizado vendido al público. Aunque este brote se produjo involuntariamente, se inició una investigación criminal significativa simultáneamente con la investigación epidemiológica debido al tamaño del brote y las muertes asociadas de 14 personas que consumieron el producto lácteo. Este brote y muchos otros demuestran que el bioterrorismo transmitido por los alimentos tiene quizás mayores posibilidades de éxito cuanto más cerca de la mesa se produce la contaminación, evitando así problemas de dilución del patógeno y destrucción por cocción / pasteurización²⁵.

2.4 Tratados para la prohibición de Armas biológicas en la historia

Debido a los diversos hechos históricos en los que se utilizaron armas biológicas tomando en cuenta el gran alcance que tenían, las sociedades comenzaron a pensar en cómo regular este tipo de armamento, pues su uso fue muy indiscriminado durante mucho tiempo, sin embargo, fue hasta el Siglo XIX que se empezaron a crear una serie de regulaciones para llevar a cabo su Prohibición.

2.4.1 El Código Lieber

En la Guerra Civil estadounidense, hubo varias conductas inhumanas y poco éticas hacia la población en las zonas ocupadas. Incluso se seguía practicando como táctica bélica el envenenamiento del agua con animales muertos. Lo que causó que el presidente Abraham Lincoln firmara las instrucciones Lieber o Código Lieber rubricadas el 24 de abril de 1863, en su artículo 70 se estipulaba que: “El uso de veneno de cualquier tipo, en fuentes de agua, alimentos o armas, está enteramente

excluido de la guerra moderna. Quien lo usa se coloca fuera de las leyes y costumbres de la guerra”²⁶.

2.4.2 Conferencia Internacional de Paz

Una década más tarde, en Bruselas en 1874, por iniciativa del Zar Alejandro II, se convocó una Conferencia de Paz en la que no se firmó ningún tratado, pero si se adoptó una declaración de 56 artículos que establecía una primera definición de los usos de la guerra terrestre. En 1899 el Zar Nicolás II y la reina de Holanda Guillermina, plantearon una Conferencia Internacional de Paz que se enfocaría en el derecho de guerra y en los armamentos, ya que en esa época los avances tecnológicos ya habían conseguido un alto nivel. En esta conferencia, celebrada del 18 de mayo al 29 de julio de 1899 en el Palais de Bois de la Haya, los delegados de los 29 estados presentes retomaron gran parte de los puntos mencionados en la conferencia de paz de Bruselas de 1874. Se prohibieron el uso de venenos, de armas envenenadas y el uso de armas, proyectiles y/o material pesado para causar sufrimiento innecesario²⁷.

2.4.3 El protocolo de Ginebra

El Protocolo para la prohibición del uso en la guerra de gases asfixiantes, venenosos u otros gases y de métodos bacteriológicos de guerra, conocido como "Protocolo de Ginebra se aprobó en la conferencia para la supervisión del comercio internacional de armas y munición, celebrada en Ginebra del 4 de mayo al 17 de junio de 1925 bajo los auspicios de la Sociedad de Naciones". En dicho documento se habló de temas específicos en armamento biológico y químico, prohibiendo así su empleo en la guerra de armas biológicas y químicas. Entró en vigor el 8 de febrero de 1928. Ese texto legal, supuso un gran paso hacia adelante en su momento, pero no era más que un compromiso moral, pues no se preveía ni procedimiento alguno de verificación, ni sanciones en caso de violación. No se prohibía ni la investigación, ni la fabricación, ni la posesión o comercio de estas. Además, fue firmado con reservas por muchos Estados y, en la práctica, no se ha cumplido. El Protocolo de Ginebra de 1925, supuso un punto de inflexión, dando

paso al primer y verdadero tratado multilateral de desarme (CABT), pues fue la primera norma en prohibir toda clase de armas²⁸.

2.4.3 La Convención de Armas Biológicas (CABT)

El Convenio para la prohibición del desarrollo, la producción y el almacenamiento de armas bacteriológicas (biológicas) y tóxicas y sobre su destrucción, se firmó el 10 de abril de 1972 y entró en vigor el 26 de marzo de 1975. Fue el primer Tratado de desarme multilateral que prohíbe una categoría entera de armas. Las obligaciones de los Estados están especificadas a lo largo de los 15 artículos de la Convención. El empleo de las armas biológicas ya estaba prohibido, como se señaló en el Protocolo de Ginebra de 1925, sin embargo, la CABT vino a extender la prohibición incluyendo también el desarrollo, la producción y el almacenamiento de “agentes microbianos u otros agentes biológicos, o toxinas, de tipos y en cantidades que no estén justificados para fines profilácticos, de protección u otros fines pacíficos”, tal y como recoge su artículo primero. De este modo, la Convención de Armas Biológicas prohíbe de manera tajante, en cualquier circunstancia, el desarrollo, la producción, la adquisición, la transferencia, el depósito, el almacenamiento o el empleo de agentes biológicos o toxinas, así como de los equipos o vectores que los utilicen. Posteriormente se pactó separar las cuestiones concernientes a las armas químicas y a las armas biológicas, logrando que se adoptara la *Biological and Toxin Weapons Convention Treaty*, cuya denominación original es Convención para la prohibición, desarrollo, producción y almacenamiento de armas bacteriológicas, toxinas y su destrucción (CABT)²⁹.

No obstante, la Convención presenta algunas deficiencias, ya que no ofrece las herramientas necesarias para prevenir y penalizar incumplimientos de los Estados parte, al no contar con un Protocolo Real de Verificación para sus artículos el cual se consideraría como una de las medidas de contraproliferación más efectivas, y permitiría disminuir el riesgo asociado al bioterrorismo, en comparación con otras Convenciones internacionales sobre armas de destrucción masiva como el Tratado de No-proliferación Nuclear (TNP), que cuenta con 191 Estados Parte, y la Convención sobre la Prohibición de Armas Químicas (CAQ) que tiene 192, mientras

la (CABT) solo suma 178. En cuanto a las medidas de construcción de la confianza, adoptadas en 1986 y vinculantes solo desde el punto de vista político, existe un compromiso de enviar cada año información sobre la situación y actividades de cada Estado Parte a través del Departamento de Asuntos de Desarme de las Naciones Unidas, aunque son enviadas a la Unidad de Apoyo a la Implementación (ISU). A los Estados Parte les corresponde realizar declaraciones sobre³⁰:

1. Centros de investigación, instalaciones de defensa biológica, laboratorios o programas nacionales de investigación;
2. Aparición de cualquier enfermedad infecciosa, epidemias u otro fenómeno causado por toxinas;
3. Difusión y publicación de investigaciones y resultados relacionados con la Convención, así como favorecer el contacto entre científicos;
4. Declaraciones nacionales de legislación relacionada con la Convención;
5. Declaraciones de actividades realizadas con anterioridad, programas biológicos defensivos y ofensivos;
6. Declaraciones de instalaciones de producción de vacunas humanas.

Al finalizar la guerra fría, los Estados parte han enfocado sus esfuerzos en reforzar la CABT a través de la implementación de un instrumento de verificación. Estos esfuerzos de negociación han sido a través de las Conferencias de Examen desde 1986. Las Conferencias de Examen de la (CABT) se celebran cada cinco años en virtud del artículo XII de la Convención, y en ellas los Estados Parte aspiran a fortalecer y actualizar el régimen de no proliferación de armas biológicas. Aunque a lo largo de las 8 Conferencias celebradas hasta el momento, los Estados Parte han llegado a acuerdos que han supuesto algunos avances en el marco de la CABT, sigue habiendo obstáculos para la no proliferación de armas biológicas. Debido a esto en la 8ª Conferencia de Examen celebrada en Ginebra del 7 al 25 de noviembre de 2016, contó con la presencia de 124 Estados Parte, la más alta que ninguna otra Conferencia anterior, cabe destacar que los Estados Parte abogaron durante esta última conferencia por la creación de un grupo independiente de expertos científicos

y técnicos que preste asesoría a la CABT en lo que al desarrollo de nuevos agentes biológicos se refiere –aquellos que tengan usos tanto civiles como militares-. Este grupo de expertos, o Comité Asesor, informaría anualmente de los avances científicos y permitiría a la CABT estar actualizada ante las nuevas posibles amenazas vinculadas a las ciencias biológicas. Los Estados Parte querían crear un grupo semejante al Scientific Advisory Board (SAB), que asesora a la Organización para la Prohibición de las Armas Químicas (OPAQ) y a sus miembros sobre los adelantos científicos importantes. En conclusión, el establecimiento de ese grupo de expertos para asistir a las partes en la puesta al día de los adelantos científicos ha sido suspendido y el único compromiso que ha podido alcanzarse es el de retomar nuevamente este debate en la próxima Conferencia de Revisión en 2021. Hasta el día de hoy y pensando en la próxima Conferencia, se continúa trabajando en los distintos temas que debieran sumarse en un protocolo de verificación, buscando afianzar el compromiso de los Estados Parte con la no proliferación de armas biológicas³¹.

Desafortunadamente la ausencia de una autoridad mundial coercitiva que obligue a los Estados a cumplir con los propósitos de los tratados es la causa de que existan países que no firman, otros que, a pesar de que lo firman, no lo ratifican, otro grupo de países que lo firman con “reservas”, y otros que se retiran. También habrá ciertos países que lo firmarán y que lo incumplirán sistemáticamente³².

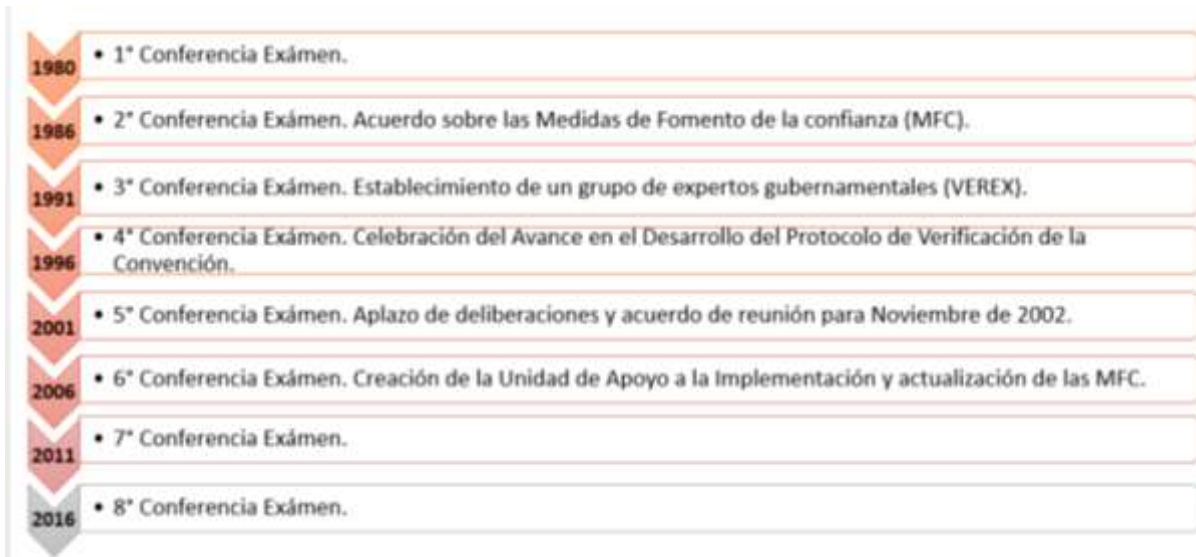


Figura 4. Línea del tiempo de las Conferencias Examen de la CABT. Fuente: Saad Bentaouet M. El bioterrorismo, ¿Es un peligro inminente? IETSCIENTIA [En línea]. 2017. [Consultado: 20 de enero de 2020] 3(2): [160-189 pp.]. Disponible en: http://institucional.us.es/revistas/Ius_Et_Scientia/VOL_3_N%C2%BA_2/2017h.pdf

2.4.4 El Grupo Australia

Este grupo surge en 1984, en principio lo conformaron 15 países los cuales buscaban evitar la comercialización de armas químicas, poco después vieron el riesgo que las armas biológicas representan, debido a esto ampliaron su objetivo y hoy en día, este grupo es compuesto por 42 países, está apoyado por la Comisión Europea, y tiene como objetivo “garantizar, mediante medidas regulatorias de la exportación de determinadas sustancias, que estas puedan ser usadas para la fabricación de agentes químicos y biológicos de doble uso y que las exportaciones de dicho producto, realizadas desde sus países, no contribuyan a la proliferación de armas químicas y biológicas”. La última reunión del grupo en febrero de 2017 fue celebrada en Argentina, la primera vez que se realiza en América Latina³³.

2.4.5 Protocolo de Cartagena

El Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica, regula el transporte internacional y la liberación de

organismos genéticamente modificados (OGM) para proteger la diversidad biológica natural. El tratado fue adoptado del 24 al 28 de enero de 2000. El Artículo I del Protocolo de Cartagena establece que el objetivo principal es "contribuir a garantizar un nivel adecuado de protección en el campo de la transferencia, manipulación y uso seguros de organismos vivos modificados (OVM) resultantes de la biotecnología moderna que pueden tener efectos adversos en la conservación y el uso sostenible de la diversidad biológica, teniendo en cuenta los riesgos para la salud humana y centrándose específicamente en los movimientos transfronterizos"³⁴.

2.4.6 Resolución 1540 del Consejo de Seguridad de la ONU

La Resolución 1540 (seguida de la Resolución 1673 en abril de 2006) describe disposiciones para la prevención de la proliferación de armas nucleares, químicas y biológicas. Las principales obligaciones están contenidas en los primeros tres párrafos operativos que incluyen (1) prohibir que los Estados brinden "cualquier forma de apoyo a actores no estatales que intenten desarrollar, adquirir, fabricar, poseer, transportar, transferir o usar (...) armas biológicas y sus medios de entrega", (2) adoptar y hacer cumplir (...) leyes para prohibir tales actividades bajo su legislación nacional y (3) implementar y hacer cumplir un sistema integral de controles nacionales sobre ADM y materiales relacionados. En resumen, la Resolución 1540 promueve el concepto de bioseguridad al establecer leyes nacionales para el manejo seguro de material biológico, la protección física de las instalaciones donde se encuentren "patógenos de alta emergencia", así como los controles fronterizos de material biológico, medios de entrega y artículos de doble uso³⁵.

2.4.7 Reglamento Sanitario Internacional

El papel principal del RSI, un instrumento jurídico internacional redactado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) es mejorar la seguridad sanitaria mundial. Este papel debe alcanzarse mediante la prevención, la protección, el control y la respuesta a la propagación internacional de enfermedades, el fortalecimiento de las defensas colectivas contra los múltiples y variados riesgos para la salud pública y,

finalmente, el establecimiento de normas para apoyar el sistema mundial de alerta y respuesta ante brotes en orden, mejorar la vigilancia internacional y los mecanismos de presentación de informes para eventos de salud pública, fortalecer sus capacidades nacionales de vigilancia y respuesta. Además, los RSI de la OMS se aplican a todo el espectro de riesgos para la salud pública, desde brotes de enfermedades naturales, enfermedades nuevas o reemergentes, consecuencias no deseadas, accidentes, negligencia, vandalismo o sabotaje hasta el uso deliberado de armas biológicas³⁶.

2.5 Criterios para considerar un microorganismo como arma biológica

Para llevar a cabo un ataque biológico, se deben considerar ciertas características a la hora de elegir el microorganismo patógeno adecuado para efectuar un ataque de este tipo, además de tomar en cuenta los artefactos o medios de entrega para una mejor eficiencia, estos agentes pueden ser transformados o mejorados tecnológicamente para causar una mayor letalidad o incapacidad en los seres humanos, plantas o animales, para ello se debe tomar en cuenta:

- Que sea altamente infeccioso al ser diseminado como aerosol y por lo tanto pueda causar grandes brotes;

Una manera de exponer a un gran número de personas sería mediante la liberación de agentes biológicos, con la posible reaerosolización persistente que probablemente lleve a más exposiciones e infecciones³⁷.

Un evento puede ocurrir en cualquier momento y no puede detectarse hasta que las primeras víctimas desarrollen síntomas de enfermedad. La entrega en aerosol de unos pocos kilogramos de agente infeccioso o tóxico puede afectar al personal en decenas o incluso cientos de kilómetros cuadrados. En condiciones ideales, una vez que un agente se disemina, hay un corto período de equilibrio antes de que el aerosol se forme completamente. Una vez que la nube de aerosol se ha estabilizado, su integridad depende de la estabilidad atmosférica (por ejemplo, velocidad del viento, inversiones térmicas, precipitación). Las estimaciones de exposición se basan con frecuencia en combinaciones óptimas de temperaturas, velocidades del viento y viento predominante: dirección, nubosidad y horas de salida

/ puesta del sol. Las condiciones climáticas, como la luz ultravioleta, la humedad y la temperatura, afectan la viabilidad del agente en la nube de aerosol. Los agentes pueden tener suficiente estabilidad innata para seguir siendo viables o pueden estabilizarse artificialmente³⁸.

Numerosos organismos podrían estabilizarse en condiciones líquidas o secas y sostener la viabilidad en un aerosol, pero se descomponen rápidamente cuando se exponen a la luz ultravioleta. Esto es común para organismos vegetativos como *Brucella* spp., *F. tularensis* y *Y. pestis*. También las esporas producidas por el género *Bacillus* son extremadamente estables. Además, se ha registrado la supervivencia a largo plazo de los agentes infecciosos, la preservación de la actividad de las toxinas y la influencia protectora de las partículas de polvo sobre las cuales los microorganismos se adsorben cuando se esparcen por aerosoles. Por lo tanto, la relación entre la infectividad y la toxicidad de los aerosoles y la cantidad de agente requerida para producir efectos equivalentes limitan el número de agentes que podrían usarse para causar un gran número de bajas³⁹.

Un ejemplo de la posibilidad de que un agente biológico se convierta en una amenaza persistente para la salud ocurrió cuando los sobres cargados de esporas de ántrax traspasaron la maquinaria de clasificación de correo del servicio postal en Washington, DC. La presión sobre los sobres, de los procesadores de manejo de correo forzaron a las esporas de ántrax a través de las porciones no selladas del sobre y provocaron numerosas infecciones en los trabajadores postales de la instalación. Finalmente sería más peligroso si una nube en aerosol altamente concentrada de un agente biológico se diera lugar en un espacio cerrado, como un edificio, en lugar de la dispersión al aire libre⁴⁰.

- Estabilidad y resistencia en el medio ambiente;

La viabilidad de un agente se ve afectada por diversos factores ambientales, como la temperatura, la humedad relativa, la contaminación atmosférica y la luz solar. Una medida cuantitativa de la estabilidad es la tasa de descomposición de un agente (por ejemplo, "tasa de descomposición de aerosoles")⁴¹. El Aum Shinrikyo también intentó varias liberaciones de toxina botulínica en un ambiente al aire libre en

Yokosuka y Yokohama en 1990 y en Tokio en 1993. Estos intentos resultaron fallidos y no generaron ningún caso reconocido de enfermedad, tal vez como resultado de varios factores, incluido el efecto de dilución por el medio ambiente en una pequeña cantidad de agente⁴².

- Transmisibilidad de persona a persona;

Diversos agentes pueden diseminarse a través del contacto con material biológico (por ejemplo, tejido, sangre, orina y placentas) o resuspensión del agente en un aerosol. La propagación de aerosol de persona a persona representa una gran amenaza de enfermedad transmisible. Los huéspedes expuestos podrían convertirse fácilmente en una fuente secundaria de diseminación para ciertos agentes como la peste o la viruela. Debido a la amenaza de aerosol y de los agentes infecciosos antes comentados, se deben tomar precauciones de seguridad para evitar la propagación entre personas, como el aislamiento posterior a la exposición y el control de infecciones, la epidemiología hospitalaria y la descontaminación del medio ambiente⁴³.

- Difusión mediante cuerpos de agua;

La contaminación por agua es quizás más difícil de llevar a cabo para alguien que quiera causar daño, ya que los grandes volúmenes y el extenso proceso de purificación de agua en uso en los países industrializados deberían evitar reintegrar un contaminante biológico. Sin embargo, un antagonista podría superar el proceso de purificación. Los efectos nocivos también podrían deberse a la contaminación biológica intencional del sistema de distribución de suministro de agua después del proceso de purificación. Un sistema de abastecimiento de agua de pozo privado puede ser más propenso a los ataques porque un pozo privado puede tener un volumen inferior de agua y puede no tener un proceso de purificación de agua tan extenso como un suministro de agua público. Un ejemplo de un extenso brote de enfermedades transmitidas por el agua como resultado del agua de pozo contaminada por *Escherichia coli* O157: H7 y *Campylobacter* sp. sucedió en 1999 en una feria del condado del estado de Nueva York. Más de 900 enfermedades y 2 defunciones resultaron de esta contaminación bacteriana del agua de pozo. Aunque

este evento no fue un evento terrorista planificado, es clara la posibilidad de que una persona contamine intencionalmente un pozo. También se debe considerar la posibilidad de una contaminación intencional de una fuente de agua pública⁴⁴.

- Utilización de vectores como medio de entrega;

Los agentes vivos que transmiten patógenos se llaman vectores. Por lo común, tanto artrópodos (ácaros, garrapatas, pulgas) como vertebrados (perros, gatos o roedores) actúan como vectores. Los vectores artrópodos pueden no ser hospedadores para el patógeno, pero lo transportan de un hospedador a otro. Muchos artrópodos se nutren picando y succionando sangre, y si el patógeno está presente en la sangre, el artrópodo vector puede ingerirlo y transmitirlo cuando pique a otro individuo. En algunos casos los patógenos se replican en el artrópodo vector, el cual se le considera entonces como un hospedador alternativo⁴⁵.

Cabe destacar que los vectores infectados, como las pulgas infectadas con la peste o los mosquitos infectados con encefalitis, también se pueden utilizar para propagar la enfermedad. Durante la ocupación japonesa de China durante la Segunda Guerra Mundial, se utilizaron pulgas en algunos de los desafortunados experimentos de armas biológicas realizados por la Unidad Militar Japonesa 731. La liberación de vectores infectados no es un método particularmente útil para fines militares, pero podría usarse con fines dañinos para lograr la interrupción de distintas actividades vitales y causar pánico. La elección del agente se limitaría a aquellos agentes que se difunden naturalmente por vectores⁴⁶.

- Que genere confusión identificar los síntomas al haber alguna enfermedad común de un brote natural;

Es probable que el ataque pase desapercibido a menos que produzca un número "significativo" de víctimas reconocibles. La mayoría de las bajas de agentes biológicos después de la inhalación de un aerosol inicialmente se presentarán con síntomas inespecíficos similares a la gripe, como fiebre, malestar, dolores musculares y dificultad respiratoria. Estas indicaciones pueden ser fácilmente desechadas, particularmente si ocurre un ataque durante la temporada por su

ocurrencia natural⁴⁷. Una enfermedad endémica es la que está frecuentemente presente en una población, aunque su incidencia suele ser baja. Una enfermedad endémica implica que el patógeno puede no ser muy virulento, o que la mayoría de los individuos en la población seleccionada pueden ser inmunes, lo que conlleva una baja incidencia de la enfermedad. Sin embargo, mientras exista una situación endémica, los individuos infectados, serán reservorios de la infección, suministrando una fuente de agentes infecciosos viables a partir de los cuales pueden contagiarse otros individuos⁴⁸.

El uso terrorista de un patógeno que normalmente es endémico o periódicamente epidémico en una determinada población sería más difícil de detectar como un evento inusual que un patógeno exótico. Por lo tanto, un ataque de bioterrorismo podría enmascararse como un brote natural. Este tipo de ataque encubierto podría detectarse inicialmente de muchas maneras, sin embargo, la vigilancia e investigación epidemiológica determinarán en última instancia si un ataque se conduce intencionalmente. Los ataques pueden ocurrir en múltiples ubicaciones (produciendo brotes de fuentes puntuales múltiples), como el brote de correo de ántrax durante el otoño de 2001 o el brote de *Salmonella typhimurium* causado por la contaminación de múltiples barras de ensaladas en Dallas, Oregon, en 1984. Además, la presentación de la enfermedad puede ser infrecuente (por ejemplo, múltiples casos de tularemia neumónica en lugar de la presentación ulcerosa glandular más común)⁴⁹.

- Que no exista una vacuna contra el agente o que esta sea de disponibilidad limitada;

De acuerdo con la OMS las enfermedades prevenibles con vacunas siguen siendo una de las causas principales de morbilidad y mortalidad. La adopción de nuevas vacunas por parte de los países con ingresos medianos y bajos (donde la carga por enfermedades suele ser la más alta) ha sido más lenta que en los países con ingresos altos. Las diferencias de cobertura persisten entre los países, al igual que en el interior de éstos. En los países con ingresos bajos, la cobertura media de la vacuna triple contra la difteria, el tétanos, la tos ferina y la vacuna contra el

sarampión fue, respectivamente, un 16% y 15% inferior a la de los países con ingresos altos en 2010. La cobertura también puede ser muy baja en asentamientos urbanos pobres, en particular en ciudades con poblaciones migrantes transitorias y en comunidades indígenas⁵⁰. En resumen, es probable que, en algunos lugares, los medicamentos y suministros médicos no estén disponibles o no sean suficientes. De igual manera en algunas zonas, medidas de salud como la vacunación o quimioprofilaxis son de uso limitado para muchos de los principales agentes de amenaza cuando se usan en un evento de bioterrorismo.

3. Las Bacterias como Armas Biológicas

El arma biológica por lo general consta de dos partes: el agente patógeno y el mecanismo de diseminación, donde el agente patógeno es el microorganismo que amenaza la salud, y el mecanismo de diseminación es el método en que dicho microorganismo llega a la víctima, que pueden ser desde cartas envenenadas hasta misiles. En cuanto a las vías de entrada de un organismo en un ser humano o animal pueden ser divididas en tres formas: a través del aparato digestivo, por inhalación y por inoculación o absorción a través de la piel. Las maneras por las que se pueden propagar los agentes biológicos y toxinas son variadas y se dividen en tres grupos: aerosoles (inhalación y absorción), vectores (inoculación) y sabotaje de alimentos y agua potable (ingestión). En la actualidad se han incorporado técnicas de ingeniería genética en la fabricación de este tipo de armamento, logrando que aumente su efectividad e interés, para fines tanto militares como terroristas, pues permite elaborar armas letales que requieren un corto tiempo para actuar⁵¹.

El método de diseminación usado estará en función de la vía de entrada del organismo, de las características de los agentes empleados y de los resultados que se pretendan lograr⁵².

Además, se debe considerar que algunas enfermedades infecciosas son causadas por patógenos que se propagan tanto en el hombre como en animales. Una enfermedad que infecta primariamente a animales pero que se transmite ocasionalmente al ser humano se denomina zoonosis⁵³.

El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de Atlanta (CDC), en los Estados Unidos, clasificó los agentes biológicos potenciales para ser utilizados como arma en agentes de tipo A, B y C. A continuación, hablaremos específicamente de las bacterias que son usadas como armas biológicas:

Tabla 3. Agentes/enfermedades de bioterrorismo	
Categoría A	Enfermedades / Agente
Puede ser fácilmente diseminado o transmitido de persona a persona; resulta en una alta mortalidad y tiene el potencial de un gran impacto en la salud pública; podría causar pánico público / interrupción social; requiere atención especial para la preparación de salud pública.	Anthrax (<i>Bacillus anthracis</i>)
	Botulismo (Toxina de <i>Clostridium Botulinum</i>)
	Peste (<i>Yersinia pestis</i>)
	Viruela (<i>Variola mayor</i>)
	Tularemia (<i>Francisella tularensis</i>)
	Fiebres hemorrágicas virales (Filo virus: Ebola y Marburg) (Arena virus: Lassa y Machupo)
Categoría B	
Son moderadamente fáciles de difundir, producen morbilidad moderada y bajas tasas de mortalidad, requieren mejoras específicas de la capacidad de diagnóstico de los CDC y una mejor vigilancia de la enfermedad.	Brucelosis (<i>Brucella spp</i>)
	Toxina Épsilon de <i>Clostridium perfringens</i>
	Amenazas a la inocuidad de los alimentos (<i>Salmonella spp</i> , <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Shigella</i>)
	Muermo (<i>Burkholderia mallei</i>)
	Melioidosis (<i>Burkholderia pseudomallei</i>)
	Psitacosis (<i>Chlamydia psittaci</i>)
	Fiebre Q (<i>Coxiella burnetii</i>)
	Toxina de Ricina de <i>Ricinus communis</i> (ricino)
	Enterotoxina B Estafilocócica
	Fiebre de tifus (<i>Rickettsia prowazekii</i>)
	Encefalitis viral (Alfavirus: encefalitis equina del este, encefalitis equina venezolana y encefalitis equina occidental)
Amenazas de seguridad del agua (<i>Vibrio cholerae</i> y <i>Cryptosporidium parvum</i>)	
Categoría C	
Amenazas futuras que podrían diseñarse para una mayor disponibilidad, facilidad de producción y difusión, potencial de alta morbilidad y mortalidad.	Virus Nipah y Hantavirus

Fuente: CDC [En línea] Agentes/enfermedades de bioterrorismo (por categoría) preparación y respuesta ante emergencias [Actualizado 4 de abril de 2018; citado 4 de marzo de 2020]

Disponible en: <https://emergency.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp>

3.1 *Bacillus anthracis*



Figura 5. *Bacillus anthracis*. Fuente: <https://medlineplus.gov/spanish/anthrax.html>

Bacillus anthracis es un microorganismo que forma parte de la familia *Bacillaceae*. Es un bacilo grampositivo, anaerobio facultativo y capsulado. Es esporogénico en aerobiosis. Tiene un tamaño de 1-3 x 3-10 μm y las esporas miden 2-5 μm de diámetro, las que son capaces de permanecer por décadas en el medio ambiente. En estado vegetativo, la bacteria tiene una pobre sobrevivencia fuera de su hospedero humano o animal⁵⁴.

Las endosporas son células diferenciadas, extraordinariamente resistentes al calor, a agentes químicos agresivos y a la radiación, que funcionan como estructuras de supervivencia, capacitando así al organismo para resistir condiciones adversas como temperaturas extremas, desecación, limitación de nutrientes y muchas más. Las endosporas representan el estado durmiente de un ciclo de vida bacteriano del tipo: célula vegetativa \rightarrow endospora \rightarrow célula vegetativa. Las endosporas son también una estructura ideal de dispersión por el viento, el agua y el intestino de los animales. Las bacterias que forman endosporas se encuentran habitualmente en el suelo y los géneros esporulantes mejor estudiados son *Bacillus* y *Clostridium*⁵⁵.

Patogenia e inmunidad

B. anthracis produce tres proteínas patogénicas: antígeno protector (PA), factor del edema (EF) y factor letal (LF), estas proteínas no son tóxicas por sí solas, pero dan lugar a unas potentes toxinas cuando se juntan. La combinación del antígeno protector y el factor del edema origina la toxina del edema, mientras que la unión del antígeno protector con el factor letal conforma la toxina letal. El PA es una proteína de 83 kDa que se une a uno de dos receptores en la superficie de las células anfitrión y que están presentes en muchas células y tejidos (p. ej., cerebro, corazón, intestino, pulmón, músculo esquelético, páncreas, macrófagos); en consecuencia, la toxina del carbunco puede dañar a numerosos tejidos. Tras la unión del PA a su receptor, las furina proteasas del anfitrión degradan este antígeno

y liberan un pequeño fragmento, pero mantienen el fragmento de 63 kDa (PA₆₃) en la superficie celular. Los fragmentos PA₆₃ se asocian a la superficie celular y forman un complejo en forma de anillo compuesto por siete fragmentos (precursor de poro o “preporo”). Este complejo heptamérico es capaz de unirse a tres moléculas de LF y/o EF. Ambos factores reconocen el mismo sitio de unión de PA₆₃, de modo que el mecanismo de unión es competitivo. La formación del complejo estimula la endocitosis y el movimiento hacia un compartimiento ácido. En este entorno, el complejo heptamérico crea un poro transmembrana y libera LF y EF al citoplasma celular. LF es una proteasa dependiente del cinc capaz de escindir la cinasa de proteínas activadas por mitógenos (MAP) y provocar la muerte celular. EF es una adenil ciclasa dependiente de calmodulina que incrementa las concentraciones intracelulares de adenosín monofosfato cíclico (AMPc) y origina un edema. Un segundo e importante factor de virulencia de *B. anthracis* es una prominente cápsula polipeptídica (formada por ácido poli-D-glutámico). La cápsula inhibe la fagocitosis de las células en fase de replicación. La actividad adenil ciclasa de la toxina de edema origina la acumulación de líquidos característica del carbunco. La actividad de la metaloproteasa del cinc de la toxina letal estimula la liberación de factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) e interleucina 1 β (IL-1 β), así como otras citosinas proinflamatorias, por parte de los macrófagos. Esta toxina interviene, igualmente, en la lisis de macrófagos en ciertos cultivos celulares. PA es la proteína dotada de una mayor inmunogenicidad (de donde proviene su nombre) de las principales proteínas de *B. anthracis*. Tanto LF como EF inhiben el sistema inmunitario del organismo anfitrión⁵⁶.

El ciclo de infección está influenciado por (i) factores que afectan la esporulación y la germinación, como el pH, la temperatura, la actividad del agua, los niveles de cationes; y (ii) factores relacionados con la temporada, como el pastoreo disponible, la salud del huésped, las poblaciones de insectos y las actividades humanas⁵⁷.

Ciclo de infección (Transmisión)

Las endosporas de *Bacillus anthracis* constituyen la principal fuente para contraer el carbunco, ántrax o enfermedad de los clasificadores de lana, la cual se considera una enfermedad zoonótica⁵⁸.

Los hospederos frecuentes de *B. anthracis* son herbívoros (vacunos, ovejas, cabras, caballos) y el cerdo como animal omnívoro. En su gran mayoría, los casos de carbunco son reportados en regiones con escasos programas de salud veterinarios, tales como Centro y Sudamérica, Medio Oriente, África, Caribe, Sudeste de Europa y algunos países de Asia. Los animales adquieren la infección mediante la inhalación o ingesta de esporas provenientes del pasto, agua u otros alimentos contaminados. El ser humano es un hospedero accidental, que en forma excepcional puede transmitir la infección a otra persona. Su contagio se produce por la ingesta de esporas presentes en carnes crudas o mal cocidas de animales enfermos, mediante la inhalación de esporas durante la manipulación de productos animales como lana, hueso, cuero, pelo y de forma cutánea en las personas que han estado en contacto con animales infectados o con sus derivados⁵⁹.

En el caso de la forma cutánea usualmente se observa una pápula indolora en el lugar de la inoculación que se convierte rápidamente en una úlcera rodeada de vesículas para convertirse posteriormente en una escara necrótica. Pueden aparecer signos sistémicos, linfadenopatías dolorosas y edema masivo. La tasa de mortalidad en los pacientes con carbunco cutáneo no tratado es del 20%. Para el carbunco digestivo los síntomas clínicos varían según la zona de infección. Cuando los microorganismos invaden la porción superior del tubo digestivo, se forman úlceras en la boca o el esófago, lo cual refleja un aumento de las linfadenopatías regionales, el edema y la septicemia. El paciente presenta náuseas, vómitos y malestar general cuando el microorganismo invade el ciego o el íleon terminal, y el cuadro evoluciona con rapidez a una enfermedad sistémica. La mortalidad asociada al carbunco digestivo se acerca al 100%. El carbunco pulmonar se puede relacionar a un periodo prolongado de latencia (2 meses o más) durante el cual la persona infectada permanece asintomática. Las esporas pueden permanecer en estado de

latencia en las fosas nasales o bien alcanzar las vías respiratorias inferiores, donde los macrófagos alveolares ingieren las esporas inhaladas y las transportan a los ganglios linfáticos mediastínicos. Los síntomas clínicos iniciales son inespecíficos: fiebre, mialgias, tos no productiva y malestar, sin embargo, la progresión de la enfermedad se hace notoria con un empeoramiento rápido de la fiebre, edema, y adenopatía mediastínica (la cual origina el ensanchamiento mediastínico en una radiografía de tórax). Casi todos los casos evolucionan a shock y muerte a lo largo de los tres días siguientes al comienzo de los síntomas a no ser que exista sospecha de carbunco y se instaure un tratamiento de forma inmediata. Este último tipo de carbunco o carbunco por inhalación ha sido nombrado tradicionalmente enfermedad de los clasificadores de lana, ya que la mayoría de las infecciones en el ser humano se deben a la inhalación de las esporas de *B. anthracis* durante el procesamiento de pelo de cabra. Actualmente esta forma significa una fuente infrecuente de infección en el ser humano, la inhalación constituye la vía de infección más probable en el caso de armas biológicas. Las esporas destinadas a su inclusión en armas biológicas se tratan con el fin de evitar su aglutinación para que puedan alcanzar las vías respiratorias inferiores, donde pueden ser fagocitadas por los macrófagos alveolares e iniciar el ciclo de replicación bacteriana⁶⁰.

El ántrax cutáneo representa > 95% de los casos humanos en todo el mundo. El período de incubación varía de unas pocas horas a 3 semanas, la mayoría de las veces de 2 a 6 días. El carbunco gastrointestinal tiene un período de incubación que es comúnmente de 3 a 7 días. En el ántrax pulmonar la mediana del período de incubación es de 4 días (rango de 4 a 6 días), pero puede ser de hasta 10 u 11 días⁶¹.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de ántrax se logra mediante la detección de *B. anthracis* en la piel, secreciones respiratorias, LCR y/o sangre. Frente a la sospecha de ántrax cutáneo se recomienda extraer una muestra para tinción de Gram, cultivo (rendimiento de 60-65%), biopsia para estudio histopatológico y hemocultivos en los cuadros sistémicos. De ser necesario, se puede proceder a la detección de anticuerpos

mediante técnicas más precisas como inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y PCR⁶².

Tratamiento

Penicilina G es el antimicrobiano de elección en casos de ántrax cutáneo, por 3 a 7 días. Las quinolonas (ciprofloxacina) y doxiciclina también son una opción para el tratamiento del ántrax cutáneo en adultos y como quimioprofilaxis en personas expuestas por inhalación o ingesta de esporas provenientes de animales muertos o sus productos⁶³.

El ántrax es una enfermedad infecciosa de declaración obligatoria en algunos países del mundo entre ellos China, y cada caso debe ser reportado de inmediato a las autoridades de salud. Los casos de ántrax en China son agrupados principalmente en áreas pastorales con problemas económicos y de condiciones de salud. Los pastores locales a menudo no saben cómo es el ántrax y los peligros de la enfermedad; por lo tanto, son reacios a excluir animales muertos y pueden desollarlos en el sitio para carne, resultando en infección. Mejorar el manejo de los animales enfermos y permitir que los pastores manejen a los animales enfermos correctamente al otorgarles materiales educativos adecuados ayudará a reducir significativamente el número de casos humanos de ántrax debido al contacto con animales infectados⁶⁴.

De acuerdo con la OMS las condiciones económicas, la calidad de los datos de vigilancia y los hábitos alimenticios son ejemplos de variables que pueden alterar dramáticamente la situación de un área a otra. Cabe destacar que los datos de incidencia industrial de ántrax se pueden inferir del volumen y el peso de los materiales potencialmente afectados manipulados o importados, teniendo en cuenta la calidad de la prevención, como la vacunación del personal y la ventilación forzada del lugar de trabajo. Estas relaciones son esencialmente todo lo que se puede usar para muchos países donde el ántrax humano es informado infrecuentemente, inadecuadamente o de forma incompleta, en ciertos países a nivel local o nacional. Cuando la enfermedad es poco frecuente o rara en el ganado, rara vez se observa en humanos. Sin embargo, cuando hay pocos brotes viene el olvido del riesgo y,

cuando se da un caso en el ganado, puede dar lugar a un aumento en el número de casos y personas expuestas. También es necesario tener en cuenta el hecho de que el ántrax se trata fácilmente si se diagnostica en una etapa suficientemente temprana de infección al evaluar los riesgos. A su vez los médicos deben ser conscientes de la demora en la resolución y no prolongar el tratamiento innecesariamente o recurrir prematuramente a la cirugía. Finalmente *B. anthracis* siempre ha ocupado un lugar importante en la lista de posibles agentes con respecto a la guerra biológica y el bioterrorismo y desafortunadamente se ha observado en los eventos de ántrax de 2001 en los Estados Unidos con consecuencias graves⁶⁵.

3.2 *Clostridium Botulinum*



Figura 6. *C. Botulinum*.

Fuente:

<https://microbiologiaparahumanos.wordpress.com/2019/02/27/clostridium-botulinum/>

C. Botulinum pertenece al género *Clostridium*, el cuál es un grupo de bacilos grampositivos anaerobios capaces de formar esporas. Este género presenta los cuatro rasgos siguientes: 1) Presencia de endosporas; 2) metabolismo anaerobio estricto; 3) incapacidad de reducir sulfato a sulfito, y 4) pared celular grampositiva. Presenta un tamaño grande (0,6 a 1,4 x 3 a 20,2 μm) y se suele aislar a partir del suelo y de las muestras de agua en todo el mundo⁶⁶. Se han descrito ocho toxinas botulínicas antigénicamente diferentes (De la A a la H). Las toxinas de los tipos A y B son comunes en los Estados Unidos; C y D ocurren en animales de granja; E, F y G también son producidos por especies no botulínicas como *C. argentinense* que produce toxina botulínica tipo G y *C. baratii* la toxina tipo F. Los tipos A, B, E, H y, en casos raros, F causan botulismo humano, mientras que los tipos C y D causan botulismo animal⁶⁷.

Patogenia e Inmunidad

La toxina botulínica es un polipéptido de 150 kDa y se deriva de una forma inactiva progenitora grande de una toxina llamada toxina derivada o protoxina. La toxina botulínica se produce cuando las células clostridiales son lisogenizadas por el bacteriófago o debido a la autólisis de las células al final del ciclo de crecimiento. Las cepas proteolíticas de *C. botulinum* producen BoNT (neurotoxina botulínica) tipos A, B, F y H, mientras que las cepas no proteolíticas producen tipos B, E o F. La toxina derivada producida por la cepa proteolítica de *C. botulinum* es activada por su propia proteasa. En el caso de cepas no proteolíticas, la toxina es activada por las proteasas gástricas del huésped, ya que estas cepas no producen proteasa. La toxina activa es una toxina de tipo A – B, que consta de dos subunidades: B (cadena pesada, 100 kDa) y A (cadena ligera, 50 kDa). Las cadenas pesada y ligera están unidas por un enlace disulfuro⁶⁸.

Normalmente, la liberación de acetilcolina desde las vesículas en la unión neuromuscular es ayudada por SNARE (*N* soluble-etilmaleimida-receptor de la proteína de unión al factor sensible a proteínas), que consisten en sinaptobrevina, SNAP-25 (proteína 25 asociada a sinaptosomal) y syntaxina. En el paciente con botulismo, después de la absorción a través de los tejidos, la toxina es transportada por la sangre a las sinapsis colinérgicas periféricas, principalmente en la unión neuromuscular. La cadena pesada (subunidad B) de la neurotoxina tiene dos dominios funcionales. El dominio C-terminal facilita la unión de la neurotoxina a un receptor específico en las proteínas de las vesículas de membrana sináptica en el terminal nervioso. El receptor es un ácido siálico que contiene glucoproteína o glucolípido, y se encuentra solo en la neurona. Mientras que el dominio N-terminal forma un canal en la neurona y entrega la cadena ligera al nervio citosol. La cadena ligera (subunidad A) tiene una sola molécula de zinc y tiene actividad endopeptidasa dependiente de zinc, que escinde las proteínas SNARE. El objetivo de la proteína puede variar según el tipo de toxina. La subunidad A de BoNT tipos A y E escinde SNAP-25; los tipos B, D, F y G cortan la sinaptobrevina o VAMP; y el tipo C escinde la syntaxina. Como resultado, el complejo SNARE no se fusiona con la vesícula de la membrana sináptica y no se produce exocitosis de la acetilcolina, lo que interfiere con la propagación del impulso nervioso. El impulso nervioso deteriorado en los nervios simpático y parasimpático produce parálisis flácida, donde el músculo está tenso y relajado, mostrando síntomas característicos⁶⁹.

Ciclo de infección (Transmisión)

El Botulismo alimentario es una intoxicación alimentaria grave, a menudo mortal causada por *C. Botulinum* el cual se encuentra normalmente en el suelo y el agua, pero sus endosporas pueden contagiar los alimentos antes de su recolección o antes de la entrada de animales al matadero. La mayoría de los casos de botulismo alimentario se debe al hecho de tomar alimentos que no están cocinados después de su preparación. En esas condiciones, las endosporas viables de *C. botulinum*

pueden germinar y las células vegetativas pueden producir la suficiente toxina como para causar una intoxicación alimentaria grave⁷⁰.

C. botulinum no se desarrolla en condiciones de acidez (pH inferior a 4,6), y por lo tanto la toxina no se generará en alimentos ácidos (aunque un pH bajo no degradará ninguna toxina ya existente). Las combinaciones de baja temperatura de almacenamiento y contenidos de sal y pH, se utilizan también para prevenir el crecimiento de la bacteria o la formación de la toxina. La toxina botulínica se ha encontrado en diversos alimentos, incluidas conservas vegetales con bajo grado de acidez, pescados, incluido el atún en lata, los pescados fermentados, salados y ahumados; y productos cárnicos como jamón y salchichas. Los alimentos en cuestión difieren de un país a otro y reflejan los hábitos locales de alimentación y de conservación de los alimentos. En ocasiones se ven involucrados alimentos elaborados con fines comerciales. Los síntomas del botulismo transmitido por los alimentos, que es más común, son visibles 4 a 36 h después de la ingestión de la toxina, que incluyen náuseas, vómitos, dolor de cabeza, visión doble, dificultad para hablar, espasmo muscular (disonía) y debilidad muscular. Primero afecta las extremidades superiores, seguido de las extremidades inferiores y presenta dificultad para respirar debido a la debilidad de los músculos de la faringe y el diafragma. La función del corazón también se debilita, y hay un alto riesgo de mortalidad. La tasa de mortalidad es del 5 al 10%; Sin embargo, la mortalidad es mucho mayor en los pacientes no tratados. En el caso del Botulismo por heridas no es tan frecuente y se produce cuando las esporas ingresan en una herida y se desarrollan en un medio anaeróbico. Los síntomas son similares al botulismo de transmisión alimentaria, pero pueden tardar hasta dos semanas en aparecer⁷¹.

El Botulismo del lactante se describió por primera vez en 1976 y en contraste con el botulismo alimentario, esta enfermedad se debe a la acción de una neurotoxina producida in vivo por las células de *C. Botulinum* que colonizan el aparato digestivo de los lactantes, en ausencia de microorganismos intestinales competidores, el patógeno se puede situar en el aparato digestivo de los lactantes. Esta entidad afecta de forma particular a los niños menores de 1 año (Edades de 1- 6 meses), y

los síntomas son inespecíficos en su fase inicial (Por ejemplo, estreñimiento, llanto débil, o retraso del desarrollo). Se puede desarrollar una enfermedad progresiva con parálisis flácida e insuficiencia respiratoria, sin embargo, la mortalidad de los casos demostrados de botulismo del lactante es muy baja (1%-2%). Cabe destacar que este tipo de botulismo se ha asociado al consumo de miel contaminada por esporas de *C. botulinum*, por lo que los niños menores de 1 año no deberían consumir este producto⁷².

Una última forma causada por la toxina botulínica en aerosol es el botulismo inhalatorio. Este modo de transmisión se ha demostrado experimentalmente en primates, y ha sido intentado por bioterroristas, sin embargo, también ha ocurrido accidentalmente en humanos. Un breve informe de Alemania Occidental en 1962 describió a 3 veterinarios expuestos a toxina botulínica reaerosolizada mientras desechaban conejos y cobayas cuyo pelaje estaba recubierto con toxina botulínica tipo A en aerosol. En estudios posteriores se detectó toxina botulínica tipo A en muestras de suero de los 3 individuos afectados⁷³. La dosis letal media para el ser humano se ha estimado en 2 nanogramos de toxina botulínica por kilo corporal, o sea, aproximadamente, el triple que en los casos de transmisión alimentaria. Tras la inhalación de la toxina, los síntomas aparecen después de 1 a 3 días, y ese tiempo es mayor cuando los niveles de intoxicación son más bajos. Los síntomas son similares a los que provoca la ingestión de toxina botulínica, y culminan en parálisis muscular e insuficiencia respiratoria⁷⁴.

Diagnóstico de laboratorio

Por lo general, el diagnóstico se basa en la historia y el examen clínicos, seguidos de la confirmación de laboratorio, específicamente para demostrar la presencia de la toxina botulínica en el suero, las heces o los alimentos, o un cultivo de *C. botulinum* de heces, heridas o alimentos. En ocasiones el botulismo se diagnostica equivocadamente, ya que suele confundirse con accidente cerebrovascular, síndrome de Guillain-Barré o miastenia gravis. El alimento sospechoso debe analizarse mediante un bioensayo en ratones, que puede detectar tan solo 0,03 ng de toxina, y los resultados se obtienen dentro de 1 a 2 días. Los antisueros se

usan para escribir la toxina obtenida del suero sanguíneo u otras fuentes. Se ha desarrollado un ensayo de PCR multiplex altamente específico para la detección de *C. botulinum* tipos A, B, E y F a partir de alimentos y materiales fecales. El ensayo puede detectar los tipos A, E y F en 10^2 células, mientras que el tipo B se detectó en 10 células por mezcla de reacción de carne, vegetales y pescado contaminados de forma natural⁷⁵.

Tratamiento

La antitoxina se debe administrar sin demoras tras el diagnóstico clínico. La pronta administración es eficaz para disminuir las tasas de mortalidad. Algunos casos de botulismo requieren un tratamiento de apoyo, especialmente ventilación mecánica, que pueden ser necesarios durante semanas e incluso meses. Los antibióticos no son necesarios (excepto en caso de botulismo por heridas). Existe una vacuna contra el botulismo, pero se utiliza en muy pocas ocasiones, dado que su eficacia no se ha evaluado totalmente y se han demostrado efectos secundarios negativos. La toxina botulínica es termolábil; por lo tanto, el calentamiento de productos sospechosos durante al menos $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos antes del consumo puede prevenir el botulismo. La formación de toxina botulínica en los alimentos puede prevenirse mediante diversos métodos; Almacenar los alimentos a (1) $<3.0\text{ }^{\circ}\text{C}$, (2) un $\text{pH} \leq 5.0$ y un almacenamiento refrigerado, (3) una concentración de $\text{NaCl} \geq 3.5\%$ más almacenamiento a temperatura refrigerada, y (4) un $A_w \leq 0.97$ más almacenamiento refrigerado⁷⁶.

3.3 *Yersinia pestis*



Figura 7. *Yersinia pestis*.

Fuente:

<https://es.wikipedia.org/wiki/Yersinia>

Yersinia pestis es un microorganismo que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Es un bacilo gramnegativo y aerobio facultativo, que mide 2 μm de largo y 1 μm de ancho⁷⁷.

Una gran cantidad de especies de mamíferos, incluido el hombre, son vulnerables a *Yersinia pestis*, el agente causante de la peste. Este organismo provoca una mortalidad grave en los hospedadores típicos (más del 50% para las formas bubónicas y 90% para las formas neumónicas, respectivamente) y una alta infectividad (aproximadamente 10 bacterias por pulga y 100 a 1000 veces más por aerosol). Esta combinación mortal ha ocasionado grandes epidemias mundiales; la peste de Justiniano de mediados del siglo VI; la Peste Negra iniciada a mediados del siglo XIV (entre 75 y 200 millones de muertes) y la Pandemia a finales del siglo XIX y XX (aproximadamente 12 millones de muertes)⁷⁸.

Patogenia e Inmunidad

Y. pestis utiliza muchos factores de virulencia distintos para soportar las respuestas inmunitarias del huésped, facilitar la adhesión o invasión celular, subvertir el tráfico endocítico, bloquear la fagocitosis, modular las vías apoptóticas y manipular la inmunidad innata y las respuestas del huésped como parte del proceso de infección inicial. Se requiere un título elevado de bacterias en el torrente sanguíneo, que en realidad causa una bacteriemia terminal grave (1×10^8 bacterias / ml), para que *Y. pestis* se transmita por las pulgas, además *Y. pestis* alberga una variedad de mecanismos antiinflamatorios que permiten que las bacterias crezcan rápidamente sin morir en la etapa temprana de la infección. Para lograr este objetivo, *Y. pestis* ha desarrollado un conjunto de efectores para inhibir las respuestas inflamatorias del huésped⁷⁹.

El sistema de secreción tipo III (T3SS), que es uno de los principales factores de virulencia de los patógenos, juega un papel importante en la amortiguación de las respuestas inflamatorias del huésped. Múltiples vías de señalización se reprimen

cuando el huésped está infectado por *Y. pestis* por varias proteínas externas de *Yersinia* (Yops). El T3SS ensambla un dispositivo macromolecular llamado inyectoma que puede administrar directamente efectores de virulencia, llamados Yops, en el citosol de las células huésped de mamíferos, lo que conduce a la interrupción del citoesqueleto y la respuesta inmune del huésped. Aunque *Y. pestis* entrega Yops efectores de casi todos los tipos de células en cultivos de tejidos, la evidencia mostró que se dirige preferentemente a las células inmunes del huésped durante las infecciones. Las células dendríticas, los macrófagos y los neutrófilos son las células inyectadas con mayor frecuencia, y los linfocitos T y B están menos seleccionados. El T3SS es un mecanismo de virulencia inducido por temperatura y bajo contenido de calcio, y la función de expresión y secreción del T3SS se activa a 37 ° C cuando las bacterias se cultivan in vitro en un medio empobrecido en calcio. Por lo tanto, el T3SS se reconoció inicialmente como un elemento de respuesta baja en calcio (LCR). Durante la infección de un huésped mamífero, el T3SS se activa y entrega Yops al citosol para modular la respuesta inmune innata del huésped, lo que permite la supervivencia y replicación bacteriana. LcrV, el componente de la punta de la aguja del inyectable T3SS, induce la producción de interleucina (IL) -10 y suprime la producción de citocinas proinflamatorias. Los efectores Yop que se trasladan al citoplasma del huésped por el T3SS, pueden alterar el citoesqueleto (YopE, YopT e YpkA), inhiben la fagocitosis (YopH, YopE, YopT e YpkA), o regulan negativamente las respuestas inflamatorias inflamatorias (YopJ). Durante la batalla entre *Y. pestis* y su huésped, el huésped responde fuertemente regulando al alza las funciones inmunológicas y la expresión de muchos otros genes asociados con la respuesta inmune. Los datos disponibles sugieren fuertemente que el crecimiento de *Y. pestis* dentro de los macrófagos desempeña un papel patogénico importante, quizás crítico, durante la peste. Durante la peste bubónica, los macrófagos pueden proporcionar un nicho intracelular protegido que permita que los bacilos de *Y. pestis* transmitidos por la pulga se adapten al crecimiento dentro de los mamíferos, en parte mediante la regulación positiva de la expresión de la proteína capsular F1, LcrV y Yops, lo que permite el crecimiento posterior como bacterias extracelulares resistentes a los fagocitos⁸⁰.

Ciclo de Infección (Transmisión)

Tras un periodo de incubación de 1 a 7 días, las personas infectadas suelen presentar una enfermedad febril aguda con otros síntomas sistémicos inespecíficos, tales como fiebre de aparición súbita, escalofríos, dolor de cabeza y dolores generalizados, debilidad, náuseas y vómitos. De acuerdo con la OMS hay dos formas de peste, en función de la vía de infección: bubónica y neumónica⁸¹.

La peste bubónica, provocada por la picadura de pulgas infectadas, es la forma más frecuente. El bacilo de la peste, *Y. pestis*, entra en el organismo por la picadura y se desplaza por el sistema linfático hasta el ganglio linfático más cercano, donde se multiplica. El ganglio linfático inflamado, tenso y doloroso se denomina «bubón». En las fases avanzadas de la enfermedad, los ganglios linfáticos inflamados pueden convertirse en llagas abiertas supurantes. La peste bubónica raramente se transmite entre personas. Sin embargo, puede evolucionar y diseminarse a los pulmones, causando una forma más grave de la enfermedad denominada peste neumónica. La peste neumónica o pulmonar en cambio es una forma más virulenta. El periodo de incubación puede ser de tan solo 24 horas. Cualquier persona con peste neumónica puede transmitir la enfermedad a otras personas a través de partículas respiratorias que se producen por la tos severa de pacientes infectados⁸².

La peste bubónica también puede evolucionar hacia la peste septicémica, lo que resulta en una bacteriemia y septicemia de alto nivel, caracterizada por manchas hemorrágicas y necróticas en la piel y seguida rápidamente por septicemia. La enfermedad alcanza su punto máximo 4 a 6 días después del inicio. La fiebre permanece a 39–40 ° C, y los síntomas de intoxicación alcanzan su máximo. Sin ningún tratamiento con antibióticos, aproximadamente el 40-70% de los afectados por la peste bubónica mueren debido a las cardiotoxinas liberadas por los bubones. Para la peste neumónica los síntomas usualmente empiezan con una enfermedad parecida a la gripe, como dolor de cabeza intenso, náuseas y malestar general, que rápidamente produce tos, dificultad para respirar y la producción de esputo sangriento. Está bien establecido que el síndrome de shock tóxico infeccioso

(ITSS) desempeña un punto importante en la mortalidad relacionada con la peste, y muestra características comunes a todos los tipos de shock séptico causados por bacterias gramnegativas, así como algunas características específicas. Como es el caso en otros tipos similares de shock, la taquicardia y la taquipnea aumentan, la temperatura corporal y la presión arterial disminuyen, y la micción cesa. Las peculiaridades de las manifestaciones clínicas de la peste son el color negro azulado múltiple inusualmente temprano y abundantes hemorragias (hematomas) con un tono plomizo que aparece en la piel y la mucosa. Su tamaño puede variar desde un punto o una línea a un área mucho más grande, y se asocian comúnmente como "puntos de muerte" o mácula mortis. Los signos similares se pueden ver en las membranas mucosas y en los órganos internos. Este rasgo distintivo particular junto con la alta tasa de mortalidad fue la razón por la cual la enfermedad se conoció como la "Peste Negra"⁸³.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de laboratorio es problemático en muchos países afectados por la peste, especialmente en las áreas remotas de los países en desarrollo, donde la logística, la infraestructura y los recursos son limitados. La detección rápida y confiable de *Y. pestis* en el sitio es esencial para el inicio oportuno del tratamiento médico y las medidas profilácticas posteriores a la exposición cuando se sospechan casos de peste⁸⁴.

Los ensayos inmunocromatográficos (ICA) se han convertido en herramientas de diagnóstico populares porque se pueden llevar a cabo en el punto de atención (POC), son sensibles, fáciles de manejar, económicos de fabricar, muy adecuados para la detección rápida en el punto y se pueden realizar en una variedad de entornos mediante personal no técnico. El Instituto Pasteur de Madagascar ha desarrollado un ICA que utiliza anticuerpos monoclonales contra el antígeno F1 de *Y. pestis* para el diagnóstico rápido de la peste neumónica y bubónica. El análisis por PCR usando cebadores específicos para el gen que codifica el antígeno F1 también se ha informado como un método de identificación de la bacteria. Al igual que los ensayos de inmunosorción enzimática (ELISA) empleados para detectar *Y.*

pestis y medir los niveles o niveles de antígeno F1 de anticuerpos séricos al antígeno F1. Se encuentra disponible un ELISA para medir los anticuerpos contra el antígeno F1 que involucra tanto la inmunoglobulina M (IgM), indicativa de una infección reciente o actual, como la inmunoglobulina G (IgG), indicativa de una infección previa. Cuando se sospecha de peste, las muestras clínicas deben recogerse de inmediato y llevarse a un laboratorio profesional para su confirmación. El diagnóstico puede realizarse a partir de una variedad de muestras, que incluyen sangre, aspirados de presuntos bubones, hisopos faríngeos, líquido cefalorraquídeo y muestras de esputo. Todas las muestras enviadas de casos sospechosos deben etiquetarse como de alto riesgo y manipularse en un gabinete de bioseguridad⁸⁵.

Tratamiento

En ausencia de un diagnóstico y un tratamiento rápido, la forma neumónica es mortal. Sin embargo, las tasas de curación son altas si la enfermedad se detecta y se trata a tiempo (dentro de las 24 horas posteriores a la aparición de los síntomas)⁸⁶.

El diagnóstico precoz y la pronta iniciación del tratamiento reducen la tasa de mortalidad asociada con la peste bubónica y la peste septicémica al 5–50%, aunque un retraso de más de 24 h en la administración de antibióticos y tratamiento antishock puede ser fatal para pacientes con peste. La estreptomycinina a una dosis de 1,0 g dos veces al día (30 mg/kg / día) durante 10 días continúa siendo considerada el remedio más efectivo. De acuerdo con estudios comparativos aleatorizados en Tanzania, un curso de 7 días de terapia intramuscular con gentamicina fue igualmente efectivo contra la peste bubónica, septicémica y neumónica, como el uso oral de doxiciclina en adultos y niños. Se recomienda cloranfenicol para el tratamiento de la meningitis por peste. En todos los casos, la terapia con antibióticos debe continuarse durante 10 días. Cabe destacar que, para todas las clases de peste, solo los pacientes completamente recuperados con resultados bacteriológicos negativos pueden ser dados de alta. Pacientes que han sufrido de la peste bubónica se puede descartar después de repetidos exámenes de ganglios linfáticos en un intervalo de 2 días, y los pacientes con peste neumónica

deben someterse a exámenes de esputo por triplicado. Finalmente, la peste se considera una enfermedad reemergente, y la mayoría de los miles de casos humanos cada año se informan desde Madagascar y otros países de África. La peste sigue siendo una de las cinco principales amenazas de bioterrorismo y un agente patógeno de nivel 1 de los CDC⁸⁷.

3.4 *Francisella tularensis*

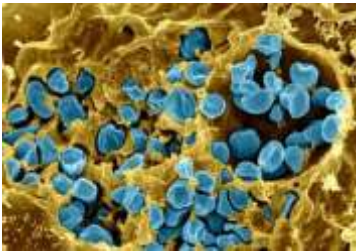


Figura 8. *Francisella tularensis*.

Fuente:

<https://microbenotes.com/pathogenesis-and-clinical-manifestations-of-francisella-tularensis/>

F. tularensis pertenece a la clase de las γ -proteobacterias, es un coco bacilo gramnegativo que se tiñe débilmente muy pequeño (0.2 x 0.2 a 0.7 μm). El microorganismo es inmóvil, posee una delgada cápsula lipídica, y es exigente desde el punto de vista nutricional (la mayoría de las cepas necesitan cisteína para su desarrollo). La bacteria es aerobia estricta y su detección en cultivo precisa de un periodo de incubación de, al menos 3 días⁸⁸.

F. tularensis es una bacteria intracelular facultativa gramnegativa que se clasifica en cuatro subespecies: *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* y *novicida*. De estas cuatro subespecies, *F. tularensis* subespecie *tularensis*, que se identificó por primera vez en América del Norte, es la más patógena tanto para humanos como para animales, ya que la dosis infecciosa es extremadamente baja (<10 unidades formadoras de colonias, UFC). Si no se trata con antibióticos, la tasa de mortalidad es extremadamente alta, alrededor del 30% - 60%. *F. tularensis* subsp. *holarctica* y *mediasiatica* tienen virulencia intermedia y bajas tasas de mortalidad, mientras que la infección con subsp. *novicida* solo se ha detectado en humanos inmunocomprometidos⁸⁹.

Patogenia e Inmunidad

F. tularensis es un microorganismo físico y genéticamente pequeño, que comprende un genoma cromosómico circular único de solo 1,89 Mb y sin plásmidos de virulencia. A pesar de esto, la bacteria puede irrumpir y multiplicarse dentro de numerosos tipos de células, con replicación en macrófagos de mamíferos en el núcleo de su patogénesis. Después de la absorción, la bacteria reside temporalmente en los fagosomas, pero luego se escapa para replicarse en el citoplasma, mientras evade el sistema inmunitario del huésped. Los mecanismos moleculares que controlan estos procesos aún no se han entendido completamente. Sin embargo, se han identificado muchos genes de virulencia

después de la secuenciación del genoma completo de cepas y subespecies de *F. tularensis*. La isla de patogenicidad de *Francisella* (FPI), que codifica un supuesto sistema de secreción de tipo VI, ha demostrado ser un importante contribuyente a la virulencia de *Francisella*⁹⁰.

La FPI de 30 kb codifica 17 genes, 11 de los cuales comprenden un sistema de secreción tipo VI, y se ha demostrado que es esencial para la supervivencia y el crecimiento dentro de los macrófagos del huésped. La región genómica que codifica la FPI está duplicada en *F. tularensis* subsp *tularensis* y subsp holarctica incluyendo la cepa de vacuna viva. Estudios recientes han demostrado que varios genes codificados en el FPI están directamente regulados por MglA, una proteína que se ha implicado en la respuesta estricta de *Francisella* durante las condiciones de inanición y estrés oxidativo. Uno de estos hallazgos señaló que la proteína locus de crecimiento intracelular IgIC fue inducida durante la infección intracelular de macrófagos y se demostró que estaba regulada por MglA. Sin embargo, actualmente se entiende poco acerca de cómo *F. tularensis* regula sus mecanismos moleculares para la patogénesis, con pocas proteínas reguladoras que se revelan durante los análisis del genoma completo. La escasez de sistemas reguladores parece sorprendente debido a la diversidad de los tipos de células que *F. tularensis* puede infectar y los entornos en los que la bacteria puede sobrevivir (intracelular y extracelular)⁹¹.

Las cepas patógenas poseen una cápsula polisacárida antifagocítica cuya pérdida se asocia a una disminución de la virulencia. La cápsula protege a las bacterias de la muerte mediada por el complemento durante la fase bacteriémica de la enfermedad. Una intensa respuesta inmunitaria innata con producción de interferón- γ y factor de necrosis tumoral (TNF) desempeña una función clave en el control de la replicación bacteriana en los macrófagos durante la fase inicial de la infección⁹².

Ciclo de Infección (Transmisión)

Francisella tularensis es el agente causante de la tularemia, una enfermedad con varias manifestaciones clínicas según la ruta de transmisión. La tularemia puede ser la consecuencia de la inhalación de polvo y aerosoles contaminados, picaduras de

vectores infectados, contacto con animales infectados o ingestión de alimentos y agua contaminados. Aunque el reservorio ambiental para *F. tularensis* no está claro, se ha encontrado dentro de roedores, lagomorfos (liebres, conejos) y artrópodos (garrapatas y pulgas), así como en numerosos sistemas acuáticos, por ejemplo, aguas superficiales y sedimentos, agua salobre y otras fuentes de agua abierta. El agua rural contaminada, de pozo y doméstica, así como el suministro de agua de la comunidad con procesos de tratamiento inadecuados o sin cloro, han sido asociados como las fuentes de brotes de *Francisella* y sugieren que la persistencia dentro de los ambientes acuáticos puede ser importante en la ecología de éste microorganismo⁹³.

La presentación clínica de la tularemia es variada y se han descrito seis formas clásicas^{94 95}:

- 1) Ulceroglandular; Ulceración en el sitio de una picadura de artrópodo u otro portal de entrada infecciosa (por ejemplo: en un accidente de laboratorio), así como linfadenopatía proximal. La lesión cutánea que comienza como una pápula dolorosa, posteriormente se ulcera y presenta un núcleo necrótico rodeado de un borde elevado, también hay ganglios linfáticos hipertrofiados.
- 2) Glandular; con linfadenopatía regional, es la más común junto con la presentación ulceroglandular, que comprenden el 50-65% de todos los casos de América del Norte.
- 3) Oculoglandular; Es una forma especializada derivada de la contaminación directa del ojo. El microorganismo se introduce en el ojo, por ejemplo, a través de dedos contaminados o la exposición a agua o partículas aerosolizadas. Los pacientes afectados presentan una conjuntivitis dolorosa y linfadenopatía regional.
- 4) Orofaringea; Es el resultado de la contaminación e ingestión conjuntival, así como de la ingestión del microorganismo.
- 5) Tifoidea; tiene un inicio agudo con dolor de garganta, fiebre alta, escalofríos y síntomas entéricos. No hay úlcera o portal de entrada evidente, ni

linfadenopatía. La pleuroneumonía es un hallazgo común en la tularemia tifoidea avanzada y en el 10-20% de los casos ulceroglandulares.

- 6) Neumónica; puede comprender tularemia inhalatoria primaria con un portal de entrada respiratorio, ejemplificado por accidentes de laboratorio en los años previos a la adopción universal por laboratorio de gabinetes de bioseguridad y por grandes brotes relacionados con la agricultura.

Estos síntomas aparecen generalmente entre los 3 a 5 días posteriores a la exposición, aunque puede variar entre 1 y 14 días⁹⁶.

De 5 a 10 células bacterianas son suficientes para causar tularemia neumónica, que tiene una tasa de letalidad alta (30%), pero se requieren de 10^6 a 10^8 células bacterianas para la infección gastrointestinal o para causar tularemia ulceroglandular, que tiene una tasa de letalidad baja⁹⁷.

Diagnóstico de laboratorio

La detección de *F. tularensis* en aspirados de ganglios linfáticos o úlceras infectadas analizadas con la tinción de Gram casi siempre aporta resultados no satisfactorios, debido a que el microorganismo tiene un tamaño extremadamente pequeño y se tiñe débilmente. Un abordaje de mayor sensibilidad y especificidad consiste en la detección directa de la muestra clínica con anticuerpos fluorescentes frente al microorganismo. Los CDC y los laboratorios de referencia estadounidense disponen de anticuerpos frente a los tipos A (*F. tularensis* subp *tularensis*) y B (*F. tularensis* subp *holarctica*), aunque la mayoría de los laboratorios clínicos no realizan esta prueba⁹⁸.

Cabe señalar que el aislamiento y la identificación por cultivo de *F. tularensis* es un desafío porque el organismo es altamente infeccioso, de crecimiento lento (requiere incubaciones de hasta 10 días), difícil de identificar y puede ser superado en el medio de cultivo por otros microorganismos presentes en muestras ambientales o clínicas. Los métodos de detección molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) no pueden distinguir entre patógenos inactivables (potencialmente infecciosos) y cultivables ya que el ADN de ambos tipos está

presente en la muestra. Sin embargo, las características de la PCR, como la rapidez, la sensibilidad y la especificidad, se pueden mezclar con el requisito de crecimiento en medio de cultivo para detectar rápidamente bajas concentraciones de *Francisella* viables⁹⁹. Otros métodos de diagnóstico son los ensayos de flujo lateral, ensayos de inmunofiltración, microarrays de ADN, pruebas de aglutinación en látex y el Sistema GeneXpert¹⁰⁰.

En la mayoría de los pacientes, la tularemia se diagnostica mediante el hallazgo de un incremento de, al menos, 4 veces del título de anticuerpos a lo largo de la enfermedad o bien de un único título de 1:160 o superior. Sin embargo, los anticuerpos (IgG, IgM e IgA) pueden persistir durante muchos años, lo que dificulta la distinción de una infección previa y la enfermedad actual. Los anticuerpos frente a *Brucella* pueden presentar reactividad cruzada con *Francisella*. En consecuencia, el diagnóstico de la tularemia no se debe basar exclusivamente en pruebas serológicas¹⁰¹.

Debido a su alta patogenicidad, baja dosis infecciosa y naturaleza en aerosol, *F. tularensis* representa una amenaza potencial grave para su uso como arma biológica y, por lo tanto, está clasificado por el Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE. UU como agente Selecto de Nivel 1¹⁰². En Japón, todos los procedimientos bacteriológicos que implican *F. tularensis* *in vitro* e *in vivo*, con la excepción de la subespecie cepa de vacuna viva *holarctica* (LVS), subespecie *tularensis* cepa B38 y subespecie *novicida* debe realizarse en una instalación BSL-3¹⁰³.

Tratamiento

Para el tratamiento antibiótico de la tularemia, hay muchas opciones disponibles; tales como estreptomycin, tetraciclina, ciprofloxacina o doxiciclina. Sin embargo, la capacidad de las cepas de *Francisella* para volverse resistentes a los antibióticos clínicamente útiles se ha demostrado en algunos estudios. Por lo tanto, al considerar el uso potencial de *F. tularensis* como arma biológica y la posibilidad de que surjan cepas resistentes a antibióticos emergentes o derivadas intencionalmente, se necesitan objetivos adicionales para la terapia antimicrobiana de la tularemia.

Además, actualmente no hay una vacuna aprobada por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) para prevenir la tularemia en los Estados Unidos. Sin embargo, una cepa de vacuna viva (LVS) derivada de una cepa de tipo B fue desarrollada y utilizada previamente en la antigua Unión Soviética. En los EE. UU., LVS se administra como una vacuna en investigación del estado, como nuevo medicamento a los trabajadores de laboratorio en riesgo, ya que proporciona cierto nivel de protección contra la enfermedad. Sin embargo, LVS no es una vacuna ideal y tiene desventajas. Por lo tanto, se están realizando nuevos esfuerzos para obtener mejores candidatos a vacunas que podrían obtener la aprobación de la FDA¹⁰⁴.

La tasa de mortalidad es inferior al 1% cuando el paciente recibe un tratamiento precoz, pero es mucho más elevada en los pacientes no tratados, sobre todo en los que están infectados por cepas de tipo A orientales. Para prevenir la infección es preciso evitar las fuentes y los vectores de la infección (como conejos, garrapatas, insectos que produzcan picaduras). Es importante evitar manipular conejos que parezcan enfermos, y utilizar guantes al desollar y eviscerar animales. La garrapata se alimenta durante un periodo prolongado antes de transmitir la infección, ya que el microorganismo se encuentra en las heces del artrópodo más no en su saliva. Por tanto, su destrucción precoz puede prevenir la infección. El uso de ropa protectora y productos repelentes de insectos reduce el riesgo de exposición¹⁰⁵.

3.5 *Brucella* spp.



Figura 9. *Brucella* spp.

Fuente:

<https://es.wikipedia.org/wiki/Brucella>

Brucella spp. pertenece a la clase de las α -proteobacterias, son cocobacilos gramnegativos de pequeño tamaño (0.5 – 0.6 a 1.5 μm) no encapsulados e inmóviles, son anaerobios estrictos y el crecimiento de algunas cepas exige la adición de CO_2 ¹⁰⁶. Hasta la fecha hay 12 especies reconocidas dentro del género *Brucella*. Las seis especies clásicas son *B. abortus* (Ganado vacuno, bisonte americano), *B. melitensis* (Bovinos, cabras, ovejas), *B. suis* (Cerdos, renos y caribús), *B. canis* (Perros, zorros y coyotes), *B. ovis* (Ovejas y venados), *B. neotomas* (Ratas silvestres del desierto). Dos especies de origen marino, *B. pinnipedialis* y *B. ceti*, fueron aislados de mamíferos acuáticos. *Brucella inopinata* y *B. microti* fueron aislados de humanos y topillos comunes, respectivamente. Recientemente, el aislamiento de *B. papionis* se describió de babuinos, y *B. vulpis* se aisló de los ganglios linfáticos mandibulares de los zorros rojos (*Vulpes vulpes*). *Brucella abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, y hasta cierto punto, *B. canis*, son responsables de la mayoría de las infecciones en animales y humanos¹⁰⁷.

Patogenia e Inmunidad

La baja cantidad de organismos virulentos necesarios para la infección, combinada con la capacidad de aerosolización, hace que *Brucella* spp. sea considerado como patógeno de categoría B y agente potencial para el bioterrorismo. Con una dosis infecciosa de 10 a 100 organismos, el riesgo estimado de tal ataque es solo superado por el ántrax y la tularemia. Las brucelas se traslocan rápidamente a través de la capa del epitelio de la mucosa *in vivo* y son endocitadas por macrófagos y células dendríticas (DC). *Brucella* sobrevive y se replica dentro de las células fagocíticas profesionales, evade y modula la respuesta inmune del huésped y se disemina a los tejidos preferidos a través del tropismo celular, por ejemplo, trofoblastos placentarios en mujeres embarazadas, pulmón fetal, sistema reticuloendotelial y tracto reproductivo. Por lo tanto, después de la unión a la

superficie de las células epiteliales de la mucosa, *Brucella* induce un mecanismo de cremallera para la internalización. Como las moléculas de unión aún no definidas se activan antes y / o en contacto con las células epiteliales, *Brucella* se une a los receptores de la superficie de las células epiteliales que contienen ácido siálico y residuos sulfatados. La unión promueve la activación de pequeñas GTPasas que desencadenan una cascada de señalización que reorganiza el citoesqueleto de actina para inducir un reordenamiento de la membrana de la célula huésped a lo largo de la superficie del patógeno que aumenta la invasión. La entrada se produce unos minutos después de la interacción que requiere la activación completa de una vía de señalización de la proteína quinasa activada por mitógeno. *Brucella* sobrevive y se replica dentro de las células fagocíticas no profesionales hasta 72 horas *in vitro* y se mueve a través del epitelio *in vivo* al subvertir la función de barrera epitelial de la mucosa para facilitar la migración transepitelial de *Brucella*. Simultáneamente, esta interacción inicia una respuesta inmune innata mínima con actividad proinflamatoria débil. Una vez translocadas a través del epitelio, *Brucella* se ve envuelta por las células fagocíticas de la mucosa en las que <10% de las bacterias fagocitadas sobreviven a un período de adaptación¹⁰⁸.

Para retrasar el reconocimiento del sistema inmune y el inicio de una respuesta inmune, *Brucella* reduce, modifica u oculta sus patrones moleculares asociados a patógenos; sin embargo, algunos receptores tipo Toll (TLR; principalmente TLR2, TLR4 y TLR9) comienzan una señalización intracelular limitada que activa el factor de transcripción NF-κB para controlar la expresión de genes de citoquinas inflamatorias, aunque a un nivel 10 veces menor que enterobacterias. Dentro de las células fagocíticas mononucleares, *Brucella* reside en una vacuola especial (vacuola que contiene *Brucella*, BCV), la cual modifica el tráfico intracelular y convierte la vacuola en un compartimento replicativo o *brucelosoma*. De acuerdo con experimentos el microambiente dentro del BCV es uno de disponibilidad limitada de nutrientes al cual *Brucella* se adapta poco después de la invasión. Inicialmente, el patógeno experimenta una expresión génica y síntesis de proteínas cuantitativamente reducidas involucradas en el metabolismo anabólico mientras

umenta el catabolismo de aminoácidos, cambia a fuentes de energía alternativas y altera la respiración para adaptarse a la baja tensión de oxígeno. En un modelo de infección por brucelosis *in vitro*, la expresión de un sistema de secreción de tipo IV (T4SS) temprano después de la infección es importante para la supervivencia intracelular y la multiplicación dentro de las células de mamíferos¹⁰⁹.

A lo largo del proceso de la infección, las brucelas invasoras que sobreviven al período de adaptación recuperan gradualmente la expresión de genes clave codificados en el proceso metabólico. Los transportadores, el metabolismo del hierro y las membranas celulares son puntos importantes para esta reactivación de la transcripción-traducción. *Brucella* inicia la replicación simultáneamente con la reanudación de la expresión de las funciones necesarias, incluidos los genes de virulencia que, en algunos casos, también están estrechamente regulados por las moléculas de detección de quórum. Las células fagocíticas mononucleares infectadas desencadenan grandes cambios transcripcionales en respuesta a la infección durante la etapa de adaptación y vuelven a los niveles normales después de 12 horas, un tiempo correspondiente al inicio de la replicación de *Brucella*. Entre los primeros cambios en la transcripción que contribuyen a la adaptación, *Brucella* tiene varias tácticas inteligentes para establecer y mantener una infección crónica, incluida la inhibición de la apoptosis de las células mononucleares infectadas, la prevención de la maduración de DC, la presentación reducida de antígeno y la activación reducida de las células T ingenuas. Una vez adaptada al entorno intramacrófago, *Brucella* prolonga su persistencia intracelular indefinidamente, lo que contribuye a la metástasis sistémica y a la infección de células o tejidos específicos preferidos, como trofoblastos placentarios, pulmón fetal, genitales masculinos, tejidos esqueléticos, sistema reticuloendotelial y endotelio¹¹⁰.

El microorganismo tiende a infectar órganos que contienen eritritol, un azúcar metabolizado por numerosas cepas de *Brucella* de modo preferente con respecto a la glucosa. Los tejidos animales (pero no los del ser humano), entre los que se encuentran la mama, el útero, la placenta y el epidídimo, son ricos en eritritol. En consecuencia, los microorganismos se localizan en estos tejidos en los reservorios

animales y pueden producir esterilidad, abortos, o estado de portador asintomático¹¹¹.

Ciclo de infección (Transmisión)

La brucelosis se transmite de animales infectados (bovinos, ovinos, caprinos, camellos, cerdos u otros animales) a los humanos por ingestión de productos lácteos no pasteurizados o por contacto con fluidos y tejidos infectados. La brucelosis también llamada 'fiebre ondulante', es la zoonosis más común en todo el mundo y un importante problema de salud pública en muchos países en desarrollo. Las áreas endémicas para la brucelosis incluyen el Medio Oriente, Asia Central, China, el subcontinente indio y África¹¹², así como América del Sur y Estados Unidos donde permanece en algunas partes debido a la infección persistente en especies de vida silvestre¹¹³. Otra forma de infección es por la inhalación de aerosoles. La exposición mínima infecciosa se da de 10 -100 organismos¹¹⁴.

De acuerdo con Dean y colaboradores, se desarrolló una lista completa de manifestaciones clínicas relacionadas con casos de brucelosis, las cuáles se presentan a continuación¹¹⁵:

- General: fiebre documentada, sudores, escalofríos, fatiga, dolor de cabeza, malestar general, pérdida de peso, náuseas / vómitos.
- Abdominal: dolor abdominal, esplenomegalia, hepatomegalia, hepatitis.
- Musculo esquelético: artralgia, artritis, mialgia, dolor de espalda, espondilitis, sacroileítis.
- Compromiso específico de órganos: epididimoorquitis, aborto, endocarditis, signos respiratorios y neurológicos, cambios cutáneos.

Como la mayor parte de la carga de la enfermedad de brucelosis se encuentra en países menos desarrollados, donde los medios de vida a menudo dependen de actividades físicas, el impacto del dolor musculo esquelético y la función deteriorada

en estos entornos puede ser aún más grave. Se ha demostrado que el dolor crónico afecta severamente la calidad de la vida social y laboral de los pacientes¹¹⁶.

La fiebre y la artralgia de las articulaciones grandes son las manifestaciones más comunes, seguidas de tos, malestar, mialgia, sudoración, erupción cutánea y afectación cardíaca. Al ser una infección sistémica, tiene múltiples manifestaciones sistémicas. Aunque es raro, las manifestaciones gastrointestinales son diversas, desde quejas relativamente leves, como anorexia, diarrea o estreñimiento, hasta complicaciones más graves que se han informado en diferentes informes de casos. Puede presentarse un abdomen agudo que simula apendicitis aguda, ileitis, colitis infecciosa, colecistitis aguda, pancreatitis aguda, linfadenitis mesentérica y obstrucción intestinal¹¹⁷.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico clínico de brucelosis puede ser difícil debido a sus signos y síntomas inespecíficos, por lo que un alto índice de sospecha puede conducir al diagnóstico exacto. Es importante obtener una historia detallada que incluya la exposición reciente a las especies hospedadoras comunes de *Brucella*, especialmente ganado, ovejas, cabras, cerdos, camellos, búfalos o perros; consumo de leche cruda o mal cocinada o productos lácteos, carne y despojos derivados de estos animales. La exposición ocupacional, los viajes o la residencia en un área en la que prevalece la infección también aumentan la probabilidad del diagnóstico. El diagnóstico se realiza con certeza cuando *Brucella* se recupera de la sangre, la médula ósea u otros tejidos. Se pueden unir diferentes pruebas para mejorar el rendimiento diagnóstico. Una combinación de pruebas de PCR-ELISA parece ser un método altamente sensible y específico para el diagnóstico ¹¹⁸.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método importante que se utiliza para diagnosticar la brucelosis rápidamente y clasificar las especies de manera efectiva. La PCR cuantitativa (qPCR) es un método más desarrollado que se origina en la PCR; qPCR puede determinar la carga bacteriana a lo largo del tiempo y proporciona una herramienta valiosa para evaluar el estado de la infección

y la respuesta al tratamiento, analizando la carga de ADN en muestras de sangre de pacientes con brucelosis de acuerdo con un estudio realizado¹¹⁹.

En el caso de los animales, el ensayo de polarización de fluorescencia (FPA) también se ha utilizado para detectar muestras de terneros de bovinos y búfalos con títulos de anticuerpos persistentes inducidos por la vacunación, mostrando ser un método adecuado para analizar animales vacunados porque puede distinguir entre animales infectados y vacunados¹²⁰.

Dada la alta proporción de casos de brucelosis con fiebre, la brucelosis debe considerarse como un diagnóstico diferencial para las fiebres de origen desconocido. En países endémicos de malaria, los pacientes con fiebre a menudo son diagnosticados y tratados por malaria basándose únicamente en hallazgos clínicos. La capacidad diagnóstica mejorada disminuiría el retraso diagnóstico y facilitaría un tratamiento rápido y apropiado. Estas deficiencias de los servicios de salud se ven agravadas por factores socioeconómicos, debido a que la brucelosis afecta a las comunidades de escasos recursos y marginadas que a menudo no tienen los medios para buscar tratamiento¹²¹.

Tratamiento

El principio del tratamiento de todas las formas de brucelosis humana es la administración de antibióticos efectivos durante un período de tiempo adecuado. La opción de tratamiento para la mayoría de los casos de brucelosis en adultos y niños (8 años y mayores) es doxiciclina 100 mg dos veces al día durante seis semanas con estreptomina 1 g al día durante dos o tres semanas o doxiciclina 100 mg dos veces al día durante seis semanas con rifampicina 600-900 mg al día durante seis semanas¹²².

Desafortunadamente el tratamiento actual de la brucelosis no ayuda a eliminar la enfermedad, ya que la tasa de recaída es del 5 al 10% incluso después de la medicación. Además, la resistencia (multidrogas) en la bacteria también afecta el tratamiento y existen otros inconvenientes del tratamiento con antibióticos, como los efectos secundarios en los niños, (necesidad de) un tratamiento a largo plazo,

problemas en la administración parental de aminoglucósidos y baja eficacia terapéutica. No obstante, de acuerdo con un estudio el encapsulado de fármacos antimicrobianos en niosomas unilamelares es un enfoque eficaz para tratar la infección endémica. Los niosomas* podrían allanar el camino hacia un enfoque novedoso para tratar la brucelosis, ya que son portadores de drogas prometedoras. La levofloxacin es un antibiótico con un amplio espectro de aplicaciones, que pertenece a la familia de las fluoroquinolonas. Es uno de los tratamientos recomendados para la brucelosis, ya que reduce el riesgo de nefrotoxicidad, muestra buenas características farmacocinéticas y también es eficaz para eliminar la recaída de la enfermedad¹²³.

* Los niosomas son vesículas tensioactivas no iónicas que tienen la capacidad de encapsular fármacos tanto hidrófilos como hidrófobos en su estructura única. Se pueden sintetizar en la nanoescala con métodos químicos fáciles. Los niosomas tienen características atractivas. Por ejemplo, son estables, menos tóxicos, baratos y no requieren condiciones especiales para el almacenamiento. La permeabilidad de los iones pequeños en los niosomas es mayor, lo que los hace portadores de drogas atractivos. Interactúan con las membranas celulares bacterianas por fusión y liberación de contacto para descargar su (s) medicamento (s) encapsulado directamente en o dentro de la célula bacteriana. Fuente: Ibidem.

3.6 Toxina ϵ de *Clostridium perfringens*



Figura 10. *Clostridium perfringens*.

Fuente:

<https://www.cdc.gov/foodsafety/diseases/clostridium-perfringens.html>

C. Perfringens es un bacilo grampositivo rectangular de gran tamaño (0.6 a 2.4 x 1.3 a 1.9 μm)¹²⁴. *Clostridium perfringens* es una bacteria anaerobia grampositiva que se distribuye ampliamente en el medio ambiente; se encuentra en el suelo y habitualmente habita en el tracto gastrointestinal de humanos y animales. La naturaleza ubicua de esta bacteria ha provocado que se convierta en una causa importante de enfermedades histotóxicas y entéricas¹²⁵.

Patogenia e Inmunidad

El éxito de *C. perfringens* como patógeno y bacteria comensal radica en su capacidad para elaborar una gran cantidad de toxinas potentes y enzimas extracelulares. El número de toxinas de *C. perfringens* caracterizadas es cada vez mayor; con más de 20 toxinas y enzimas diferentes clasificadas hasta la fecha. No todas las toxinas son producidas por una sola cepa, sino que los aislados individuales varían en el transporte y la producción de toxinas¹²⁶. De acuerdo con el último esquema actualizado, las cepas se clasifican en siete toxinotipos (A – G) basados en la producción de seis toxinas de tipificación; es decir, α (CPA), β (CPB), ϵ (ETX), ι (ITX), cpe (CPE) y net B (Net B) entre otras¹²⁷.

Con unas pocas excepciones importantes, estas toxinas se codifican en gran conjugativo plásmidos, que permite el potencial de transferencia de gen de la toxina entre las diferentes cepas de *C. perfringens* en el tracto gastrointestinal y puede prolongar la enfermedad. Las toxinas de *C. perfringens* se pueden clasificar funcionalmente en: enzimas que dañan la membrana, toxinas formadoras de poros, toxinas intracelulares y enzimas hidrolíticas. Las toxinas que dañan la membrana, como la α -toxina, son enzimas que dañan las membranas celulares diana a través de su capacidad para descomponer los constituyentes de la membrana celular de los mamíferos. Las toxinas formadoras de poros comprenden la categoría de toxinas más grande y funcionan para interrumpir la permeabilidad de la membrana y el

transporte de iones al insertar en la membrana y formar un canal o poro permeable. Esta categoría incluye a la ϵ -toxina¹²⁸.

La toxina ϵ (Etx) es una potente toxina formadora de poros (PFT) producida por las cepas de *C. perfringens* B y D. Etx es típicamente secretado por la bacteria en el intestino como un monómero soluble en agua relativamente inactivo, llamada protoxina (P-Etx), con un peso molecular estimado de 32.9 kDa. La protoxina se convierte en la toxina madura activa después de que los péptidos de los extremos carboxi y amino se eliminan mediante escisión proteolítica en el intestino, ya sea por proteasas digestivas del huésped, como la tripsina, o la proteasa producida por *C. perfringens*. La activación de la toxina genera una proteína más ácida (punto isoeléctrico de 5.4 vs. 8.3) que es casi 1000 veces más tóxica que su progenitor. Por un mecanismo complejo, Etx cruza la pared intestinal, ingresa al torrente sanguíneo y se acumula preferentemente en el cerebro y los riñones. Etx es miembro de la familia de aerolisinas de β -PFT ($\alpha\beta$ -PFT). Los miembros de los $\alpha\beta$ -PFT se encuentran en todos los reinos de la vida y se pueden usar para ataque o defensa. Etx es único entre $\alpha\beta$ -PFT, ya que muestra alta potencia y especificidad celular. Se informa que la dosis letal del 50% (LD₅₀) en ratones después de la administración intravenosa de la toxina es de 100 ng kg⁻¹, lo que equivale a 7 μ g por 70 kg de humano. Esto convierte a Etx en la tercera toxina clostridial más potente después de las neurotoxinas botulínica y tetánica. Por esta razón, Etx está considerado como un arma biológica potencial en algunos países y como agente biológico de categoría B por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), el principal instituto de salud pública de los Estados Unidos¹²⁹.

ETX se sintetiza durante la fase de crecimiento exponencial de *C. perfringens* y la citotoxicidad se asocia con una pérdida rápida de K⁺ intracelular y un aumento de Cl⁻ y Na⁺, mientras que el aumento de Ca²⁺ ocurre más tarde. Etx es responsable de la enterotoxemia en animales, principalmente ovejas y cabras, además induce edema perivascular en varios tejidos donde causa edema y lesiones necróticas¹³⁰.

Ciclo de infección (Transmisión)

Clostridium perfringens se encuentra entre las bacterias más extendidas, con una distribución ambiental ubicua en el suelo, las aguas residuales, los alimentos, las heces y la flora intestinal normal de humanos y animales. Sin embargo, este formador de esporas anaeróbicas grampositivas también es uno de los patógenos humanos y animales más usuales e importantes, causando un espectro de enfermedades¹³¹. Sus endosporas latentes son altamente resistentes a los daños ambientales, como el calor, las corrientes de aire y los agentes desinfectantes, y pueden crecer a temperaturas de 20 ° C a 53 ° C, mientras que las esporas pueden sobrevivir a altas temperaturas (hasta 95 ° C durante 1 h). La contaminación de la carne puede ocurrir a través del contacto de los cadáveres con las heces, así como a través de la contaminación cruzada por otros alimentos o superficies contaminadas durante el sacrificio. La mayoría de los brotes de *C. perfringens* transmitidos por alimentos se asocian a productos cárnicos y avícolas. La cocción incompleta de los alimentos y las temperaturas de calentamiento, enfriamiento y mantenimiento inadecuados de carne se reconocen como factores principales que contribuyen al desarrollo de brotes de *C. perfringens*¹³².

En cuanto a las otras toxinas causantes de enfermedades encontramos que la toxina α junto con la PFO es esencial para la mionecrosis clostridial humana o la gangrena gaseosa, las cepas que pertenecen a *C. perfringens* tipo F se definen como aislados que portan el gen de la toxina α y el gen *cpe*, éstas producen CPE (enterotoxina) tras la esporulación, pero no portan los genes estructurales para la toxina β , la toxina ϵ o ι -toxina. Se ha demostrado que estas cepas son responsables de la intoxicación alimentaria humana y la diarrea mediada por *C. perfringens* no transmitida por los alimentos, incluidos algunos casos de diarrea asociada a antibióticos. La toxina β es esencial para infecciones específicas entéricas de *C. perfringens* en varias especies, la toxina ϵ es la toxina clave en muchas infecciones enterotoxémicas por *C. perfringens* en ovejas y cabras y la toxina NetB, producida por la cepa G es esencial para la enteritis necrótica en pollos¹³³.

La mionecrosis por clostridios es una enfermedad que ilustra el gran potencial de virulencia de los clostridios histotóxicos. El inicio de la enfermedad, caracterizado por un intenso dolor, se suele desarrollar a lo largo de la semana siguiente a la introducción de los clostridios en un tejido como consecuencia de un traumatismo o una intervención quirúrgica. Este inicio se ve instantáneamente seguido por una extensa necrosis muscular, shock, insuficiencia renal y muerte, generalmente durante los 2 días siguientes al comienzo del cuadro. El examen macroscópico del músculo muestra tejidos necróticos desvitalizados. El gas que se ve en los tejidos está producido por la actividad metabólica de las bacterias que se dividen rápidamente (de ahí el nombre de gangrena gaseosa). Las toxinas de los clostridios originan habitualmente hemólisis y sangrado importantes. Una intoxicación relativamente frecuente pero que en muchas ocasiones se pasa por alto, se caracteriza por: un periodo de incubación corto (de 8 a 24 horas); una presentación clínica que incluye espasmos abdominales y diarrea acuosa pero que no cursa con fiebre, náuseas no vómitos, y una evolución clínica de duración comprendida entre 24 y 48 horas¹³⁴. La causa de la intoxicación alimentaria se da cuando se consumen grandes cantidades de células vegetativas enterotoxigénicas de *C. perfringens* [generalmente > 10⁵ unidades formadoras de colonias (u.f.c) / g]¹³⁵.

Los síntomas de gastroenteritis mediada por CPE en humanos se manifiestan por calambres abdominales y diarrea pronunciada, que aparecen en 8-12 h y en la mayoría de los casos se resuelven en 12-24 h. En individuos sanos, la enfermedad es autolimitada; sin embargo, en personas desnutridas y pacientes debilitados, ancianos y muy jóvenes, la bacteria puede colonizar, invadir y causar úlceras graves y la muerte. Esta última puede ocurrir debido a la deshidratación severa. La muerte súbita del lactante o SID se asocia con este patógeno debido a los altos niveles de toxinas en la sangre que resultan en shock y muerte súbita¹³⁶. La enteritis necrosante es un proceso necrosante agudo infrecuente que afecta al yeyuno y se caracteriza por un dolor abdominal agudo, vómitos, diarrea sanguinolenta, úlcera del intestino delgado, y perforación de la pared intestinal, lo que origina peritonitis y shock. La mortalidad de los pacientes afectados por esta infección se acerca al 50%¹³⁷.

Diagnóstico de laboratorio

La detección al microscopio de bacilos grampositivos en las muestras clínicas, generalmente en ausencia de leucocitos, es muy útil debido a la característica morfología de estos microorganismos. *C. perfringens* se puede detectar en los medios de cultivo sencillos tras un periodo de incubación de 1 día o menos y en condiciones adecuadas se puede dividir cada 8 o 10 minutos, por lo que su crecimiento en los medios de agar y en los caldos de hemocultivo se puede detectar después de una incubación de sólo unas horas. Los métodos de cultivo convencionales se utilizan para aislar *C. perfringens* de heces o muestras de alimentos. Se han desarrollado métodos de PCR multiplex para detectar la presencia de genes de toxina y enterotoxina (cpe), en aislamientos de *C. perfringens*. La tipificación de toxinas usando PCR también permite la tipificación de aislados basados en la presencia de genes específicos que codifican toxinas. En cuanto a inmunoensayos, existen dos métodos de ensayo basados en anticuerpos disponibles comercialmente: prueba de aglutinación de látex pasivo inverso de Oxoid e inmunoensayo enzimático basado en receptor CPE de Tech Lab¹³⁸.

Tratamiento

En casos de intoxicación alimentaria, el tratamiento y la prevención incluyen reposo en cama e hidratación con líquidos. En estos pacientes, no se recomienda la terapia con antibióticos, ya que el antibiótico inhibirá la microflora residente, inducirá la floración de *Clostridium* y la producción de toxinas en el colon. Sin embargo, se recomienda el uso de antibióticos para otra forma de enfermedades que incluyen enteritis necroticans, gangrena gaseosa y mionecrosis en humanos y animales¹³⁹.

La gangrena de gas clostridial es una infección fulminante que requiere cuidados intensivos meticulosos, medidas de apoyo, desbridamiento quirúrgico emergente y antibióticos apropiados. Debido a que otras bacterias además de los clostridios producen gas tisular, la cobertura inicial debe ser amplia en cuanto a la fascitis necrosante hasta que el diagnóstico se establezca por cultivo o tinción de Gram. El desbridamiento quirúrgico emergente y agresivo y la administración de

antimicrobianos sistémicos son los pilares de una terapia eficaz y crucial para asegurar la supervivencia. Deben evitarse demoras innecesarias en cuanto a procedimientos auxiliares. El tratamiento de la gangrena gaseosa experimental ha demostrado que la tetraciclina, la clindamicina y el cloranfenicol son más efectivos que la penicilina. Debido a que el 5% de las cepas de *C. perfringens* son resistentes a la clindamicina, la combinación de penicilina más clindamicina es el tratamiento antibiótico recomendado. Otra alternativa es el manejo de HBO (Oxígeno Hiperbárico), el cual se ha utilizado en centros especializados que tienen una mayor experiencia en el manejo de infecciones agresivas como las antes mencionadas, sin embargo, la cercanía y velocidad de transferencia deben considerarse meticulosamente antes de transportar al paciente a las unidades de HBO, lo que puede retardar la intervención quirúrgica que puede salvar vidas. Ahora bien, HBO es defendido sobre evidencias experimentales que prueban que suprimió el crecimiento en fase logarítmica de *C. perfringens*, pero no el *C. septicum* más aerotolerante. Los estudios en modelos animales demuestran poca eficacia de HBO cuando se usa solo, mientras que los antibióticos solos, especialmente aquellos que inhiben la síntesis de proteínas bacterianas, tienen un beneficio marcado¹⁴⁰.

3.7 *Salmonella* spp.

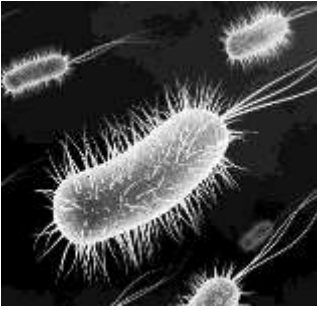


Figura 11. *Salmonella* spp. Fuente: <https://avicultura.com/metas-de-control-de-salmonella-enteritidis/>

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y es un bacilo Gramnegativo, no formador de esporas. *Salmonella* spp. son móviles (excepto *Salmonella enterica* serovar Pullorum y serovar Gallinarum) y expresan flagelos peritricosos. Son anaerobios facultativos que pueden crecer en un rango de temperatura de 5–45 ° C con una temperatura óptima de 35–37 ° C. El rango de pH deseable para el crecimiento de *Salmonella* es entre 6 y 7, pero puede crecer a pH 4.1. En algunos casos, *Salmonella* puede crecer a pH bajo (3.5–3.8)

en aderezos comerciales para ensalada y mayonesa y usualmente es sensible al aumento de las concentraciones de sal (0.5–5%). *Salmonella* spp. también se han agrupado en función de sus patrones antigénicos somáticos (O), flagelares (H) y capsulares (Vi) y hay más de 2500 serovares. Para simplificar la clasificación de *Salmonella*, el género se ha dividido en dos especies principales: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. Una tercera especie, *Salmonella subterránea*, se ha agregado a la lista. *Salmonella enterica* contiene 2443 serotipos y *S. bongori* contiene 20 serotipos. *S. enterica* ahora tiene seis subespecies, que están designadas con números romanos: I (*enterica*), II (*salamae*), IIIa (*arizonae*), IIIb (*diarizonae*), IV (*houtenae*) y VI (*indica*)¹⁴¹.

Patogenia e Inmunidad

Salmonella puede invadir el revestimiento epitelial intestinal por fagocitosis inducida, sobrevivir y multiplicarse dentro de la vacuola que contiene a *Salmonella* (SCV). La invasión de las células epiteliales es un proceso complejo que involucra múltiples factores de virulencia, que organizan eventos que conducen a la alteración de la membrana, la polimerización de actina, la localización y replicación bacteriana dentro del SCV y la lisis celular. *Salmonella* inyecta proteínas de virulencia directamente dentro del citoplasma de las células epiteliales utilizando el sistema de secreción tipo III (T3SS), un aparato similar a una jeringa, para inducir su propia internalización. Los grupos de genes de virulencia de *Salmonella entérica* se

encuentran en 12 islas de patogenicidad (SPI), y algunos SPI pueden ser específicos para ciertos serotipos. Los genes que codifican el T3SS se encuentran en las islas de patogenicidad de *Salmonella* SPI-1 y SPI-2. Los genes ubicados en otras islas de patogenicidad son responsables de la supervivencia dentro de los macrófagos, la entero patogenicidad, la absorción de hierro y la resistencia a los antibióticos¹⁴².

Los productos génicos son esenciales para causar infección sistémica y mediar la replicación bacteriana en lugar de la supervivencia dentro de los macrófagos del huésped. Durante la fase intestinal de la infección, *Salmonella* tiene que sobrevivir en condiciones ambientales adversas que incluyen ácido estomacal, sales biliares, limitaciones de oxígeno, falta de nutrientes, péptidos antimicrobianos, moco y la presencia de microbiota natural. Un regulador global, el factor sigma como RpoS se cree que regula la expresión de más de 60 proteínas, que posiblemente promueven la supervivencia bacteriana en estas condiciones. Además, el regulador transcripcional, HilA, controla los genes necesarios para la invasión, y PhoP-PhoQ son necesarios para la supervivencia bacteriana dentro de los macrófagos. La respuesta inmune innata a *Salmonella* involucra células epiteliales y fagocitos locales, incluidos macrófagos y células dendríticas. Éstos reconocen los antígenos de *Salmonella* como LPS y flagelos utilizando moléculas de reconocimiento de patrones, TLR4 y TLR5, respectivamente. Después del consumo de alimentos contaminados, *S. Typhi* se transloca a través de las células del microfold de la mucosa (M) o las células dendríticas y se multiplica en la capa submucosa. Las células dendríticas migratorias (DC) transfieren *S. Typhi* al hígado y al bazo, donde las bacterias se localizan en hepatocitos, esplenocitos, células reticuloendoteliales, macrófagos, neutrófilos y DC. Las bacterias abandonan el hígado y el bazo y entran en la circulación sanguínea en grandes cantidades y alcanzan la vesícula biliar. Desde la vesícula biliar, las bacterias son expulsadas al intestino para la segunda ronda de infección a través de las células M. En algunos casos, se ve ulceración del intestino¹⁴³.

Ciclo de infección (Transmisión)

La salmonelosis humana generalmente es transmitida por alimentos y se adquiere a través del consumo de alimentos contaminados de origen animal como carne, leche, aves, pescado (atún) y huevos. Los productos lácteos como el queso y el helado también están relaciones con brotes de *Salmonella*, sin embargo, algunas frutas, verduras y nueces, también se han visto implicados en brotes recientes. *Salmonella entérica*, especialmente la *subespecie entérica*, infecta a humanos y animales de sangre caliente causando tres formas de la enfermedad: fiebre tifoidea, gastroenteritis y septicemia (bacteriemia). La fiebre tifoidea es producida por *Salmonella entérica* serotipo *Typhi*, el patógeno se transmite a través de alimentos y agua que han sido contaminados por las heces humanas. La transmisión de persona a persona es el vehículo más común. Las personas que se recuperan de la fiebre tifoidea actúan como portadores crónicos y eliminan bacterias durante meses. Por este motivo, es importante que los manipuladores de alimentos se abstengan de trabajar durante e inmediatamente después de las infecciones por *S. Typhi*. El período de incubación para la infección por *S. Typhi* es de 1 semana a 1 mes y los síntomas aparecen dentro de 1 a 2 semanas y duran de 2 a 3 días. Se observa fiebre alta debido a los altos niveles de liberación de citocinas mediada por LPS. Otros síntomas incluyen malestar general, dolor de cabeza, náuseas, mialgia, anorexia, estreñimiento, escalofríos, convulsiones y delirio (delirio, inquietud y alteración temporal de la conciencia). La tasa de mortalidad de la fiebre tifoidea es tan alta como 10%. En los portadores crónicos, el organismo se desprende de la vesícula biliar durante meses o años¹⁴⁴.

En el caso de *Salmonella* no tifoidea (NTS) provoca gastroenteritis, que a menudo es autolimitada en individuos sanos y rara vez causa infección sistémica. Sin embargo, la enfermedad podría ser invasiva, y la bacteria se puede propagar sistémicamente a sitios extraintestinales en individuos inmunocomprometidos, como niños, personas desnutridas o una persona que padece VIH u otras enfermedades inmunosupresoras. Los síntomas aparecen entre 6 y 24 horas: náuseas, vómitos, dolor abdominal (parecido a una apendicitis), dolor de cabeza,

escalofríos y diarrea con sangre o sin sangre, seguidos de debilidad muscular, dolor muscular, desmayos y fiebre moderada. Los síntomas pueden persistir por 2-3 días y se resuelven por sí solos en individuos sanos y usualmente desaparecen en 3 a 4 días. La dosis infecciosa de salmonella es bastante amplia y puede variar de 1 a 10^9 ufc g^{-1} . La tasa de mortalidad por salmonelosis es de aproximadamente 4%. Del 1 al 5% de los pacientes en recuperación pueden servir como portadores crónicos y eliminar bacterias de 3 meses a 1 año¹⁴⁵.

Diagnóstico de laboratorio

El método tradicional de cultivo de *Salmonella* implica pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, aislamiento de cultivo puro, detección bioquímica y confirmación serológica, que requiere de 5 a 7 días para completarse en el laboratorio. Se han utilizado métodos inmunológicos que incluyen el ensayo inmunoabsorbente enzimático (ELISA), la técnica de inmunofluorescencia de adhesión superficial, el inmunoensayo dot-blot, el biosensor de resonancia de plasmón superficial (SPR), el biosensor piezoeléctrico, el ensayo de inmunofluorescencia con resolución temporal (TRF) y el sensor de fibra óptica para la detección de *Salmonella*, y el límite de detección para estos ensayos está en el rango de 10^5 - 10^7 células. Estos ensayos requieren enriquecimiento de la muestra y un paso de concentración que puede incluir separación inmunomagnética o centrifugación / filtración. La reacción en cadena cuantitativa en tiempo real de la polimerasa PCR (Q-PCR), PCR de transcriptasa inversa (RT-PCR) y amplificación basada en secuencias de ácido nucleico (NASBA) se han utilizado para la detección de *Salmonella* de varias matrices alimentarias, siendo este último método (NASBA) más sensible que la RT-PCR al detectar células de *Salmonella* viables y además, requiere menos ciclos de amplificación que los métodos convencionales de PCR¹⁴⁶.

Tratamiento

Para el caso de la fiebre tifoidea el tratamiento antibiótico con fluoroquinolonas es la terapia más efectiva; sin embargo, el ácido nalidíxico, la ampicilina y el trimetoprim / sulfametoxazol también son efectivos. Actualmente se emplean dos tipos de vacunas: la forma inyectable de bacterias vivas atenuadas y antígenos Vi y la forma

oral de una cepa atenuada de *S. Typhi* Ty21a. Sin embargo, la cepa emergente DT204 es resistente a ocho a nueve antibióticos y es un problema importante para la salud humana. La gastroenteritis inducida por *Salmonella* no tifoidea es autolimitada en pacientes sanos. La terapia con antibióticos no se recomienda para la "gastroenteritis no complicada". Sin embargo, puede ser necesario el tratamiento con cloranfenicol para eliminar a *Salmonella* durante la infección sistémica. La prevención de este microorganismo incluye el manejo adecuado de los alimentos, evitar la contaminación cruzada, implementar la higiene personal y educar al público sobre la fuente y el manejo seguro de los alimentos y el saneamiento adecuado. Los huevos deben mantenerse refrigerados hasta que se coman para evitar la multiplicación de bacterias en la yema. Una cocción adecuada con una temperatura mínima de pasteurización de 71.7 ° C durante 15s seguido de un enfriamiento rápido a 3–4 ° C o congelación dentro de 2 h eliminaría a *Salmonella* de los alimentos¹⁴⁷.

3.8 *E. coli* O157:H7



Figura 12. *E. coli* O157:H7.

Fuente:

<https://www.cdc.gov/ecoli/pdfs/CDC-E.-coli-Factsheet.pdf>

E. coli pertenece al género *Escherichia* y a la familia *Enterobacteriaceae*. *Escherichia coli* es un anaerobio facultativo, gramnegativo, bacilo corto (1–2 μm de longitud) y es móvil. Expresa flagelos peritricos, fimbrias o pili. Algunas cepas expresan cápsulas. La temperatura óptima de crecimiento es de 35–37 ° C. *E. coli* se ha utilizado ampliamente como organismo modelo para estudiar muchos campos como la fisiología bacteriana, el metabolismo, la regulación genética, la transducción de señales y la estructura y función de la pared celular. La bacteria pertenece naturalmente a la comunidad microbiana intestinal humana y animal. Los antígenos somáticos "O" son una clase de determinantes de serogrupo de *E. coli*, que consisten en lipopolisacárido (LPS), hay 174 antígenos O. Además, hay 53 serotipos "H" o antígenos flagelares (H1 – H53). También hay 80 antígenos capsulares o antígenos "K". Los aislados de *E. coli* pueden tener una variedad de combinaciones de antígenos. Se informa que treinta serovares son responsables de las enfermedades diarreicas. El antígeno "O" identifica el serogrupo, mientras que la "H" identifica el serotipo. De manera general *E. coli* patógena se clasifica en dos grupos: *E. coli* que infecta el tracto gastrointestinal causando diarrea; en este grupo se encuentra *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) y su subconjunto más patógeno: *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) entre otros tipos, el segundo grupo de *E. coli*, infecta el tracto extraintestinal afectando el riñón, el tracto urinario, el cerebro y el sistema circulatorio provocando septicemia. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) es un subconjunto de *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) ampliamente clasificada que causa diarrea con sangre o colitis hemorrágica (HC) y síndrome urémico hemolítico (SUH) siendo frecuente en los países industrializados. En términos generales, cualquier cepa de *E. coli* que produce Stx se llama STEC. El principal serotipo asociado con el grupo EHEC es *E. coli* O157: H7 y un serotipo no móvil, O157: NM, el primer brote de O157: H7 se informó en 1982-1983¹⁴⁸.

Patogenia e Inmunidad

La EHEC causa una lesión característica de adhesión y borrado (A / E) y sucede en tres etapas: adherencia localizada, evento de señalización y contacto íntimo. En la primera etapa, la adhesión de bacterias a las microvellosidades de las células epiteliales intestinales está mediada por fimbrias (codificadas en el plásmido de 60 MDa), pilus tipo IV llamado coli pilus hemorrágico y flagelos. En la segunda etapa, se transmite una señal a la célula huésped a través del T3SS, y se realiza la fosforilación de la proteína eucariota, lo que conduce a la polimerización de actina, reordenamiento del citoesqueleto y borramiento de microvellosidades. En la tercera etapa, el contacto íntimo está mediado por la proteína intimina codificada por el gen *eae* ubicado en la isla de patogenicidad LEE, similar a EPEC¹⁴⁹.

T3SS desempeña un papel crucial durante la patogénesis de EHEC, y entrega proteínas efectoras de virulencia directamente dentro del citoplasma de la célula huésped que son responsables de la lesión A / E (fijación y borrado). La patología A / E causa desprendimiento de enterocitos, inflamación y posiblemente diarrea, que puede resultar de la inhibición de la absorción de sodio y cloruro, la activación del canal de cloruro, el aflojamiento de la unión apretada, el aumento de la permeabilidad paracelular, la respuesta inflamatoria y la producción de citocinas. El complejo de agujas T3SS está compuesto por varias proteínas Esc (EscN, EscR-V, Esc J, EscC, EscF y EspA), que se extiende desde la membrana citoplasmática bacteriana (CM) hasta la membrana externa (OM). El T3SS inyecta proteínas efectoras conocidas como Esp (proteínas secretadas por *E. coli*), que realizan varias funciones: EspB y EspD forman un translocón de membrana plasmática para la entrega efectiva de proteínas efectoras. EspB también afecta la estructura del citoesqueleto al interrumpir el citoesqueleto de actina. Por otro lado, STEC produce dos tipos de Stx (Toxina Shiga): Stx1 y Stx2, Stx1 tiene tres subtipos: Stx1a, Stx1c y Stx1d. Stx2 tiene siete subtipos: Stx2a - Stx2g. Las moléculas Stx son toxinas heterohexámeras A – B5 de 70 kDa, en las cuales la subunidad A (StxA) es de aproximadamente 32 kDa y la subunidad B (StxB) es de 7.7 kDa cada una. StxA es una enzima y StxB interactúa con el receptor, y ambos se secretan en el periplasma

bacteriano y se ensamblan a través de un enlace no covalente, por lo tanto, llamado holotoxina. Una sola subunidad enzimática A permanece asociada con un pentámero de subunidades B. StxB interactúa con el receptor de la célula huésped, globotriaosilceramida (Gb3), un glicolípido que consiste en galactosa α (1–4), galactosa β (1–4), glucosa ceramida o globotetraosilceramida (Gb4), y es abundante en el endotelio y el túbulo renal. Las toxinas Stx1 y Stx2 se unen a Gb3. Stx1 causa daño localizado al epitelio del colon debido a la alta afinidad de unión a Gb3, mientras que Stx2 tiene baja afinidad por Gb3. Stx1 y Stx2 pueden alcanzar el sistema circulatorio y los riñones. Los túbulos renales humanos tienen un alto contenido de Gb3 y son el objetivo principal del daño inducido por toxinas que resulta en el síndrome urémico hemolítico. Los subtipos Stx, Stx2e y Stx2f, usan Gb4 como el receptor preferido. Stx2 tiene una toxicidad significativamente mayor que Stx1. Stx2 junto con intimina (Eae) presentan el mayor riesgo de desarrollar SUH y HC. Las cepas de STEC con eae y que producen Stx2 causan una enfermedad más grave que las cepas que producen solo Stx1 o Stx1 y Stx2¹⁵⁰.

La inflamación es muy prominente en el intestino durante la infección con *E. coli* O157: H7. Se cree que la flagelina (H7) es responsable de la respuesta inflamatoria. Se une al receptor tipo toll 5 (TLR-5) en las células epiteliales; activa p38, ERK (quinasa regulada por señal extracelular) –MAP (proteína quinasa activada por mitógeno) quinasa y NF- κ B; y aumenta la expresión de citocinas proinflamatorias IL-8. La inflamación probablemente interrumpe la función de barrera epitelial y facilita el paso de Stx desde la luz a la capa submucosa. El LPS (antígeno O157) activa las plaquetas y, junto con Stx, puede causar daño a las células endoteliales y puede contribuir a la trombocitopenia observada en el SUH. Una liberación mediada por LPS de las citocinas IL-1 y TNF- α de los macrófagos activados puede causar daño vascular durante la insuficiencia renal en los pacientes con SUH. Finalmente, EHEC utiliza un sistema regulador de detección de quórum para reconocer el ambiente intestinal y activar los genes necesarios para la colonización en el intestino. Los autoinductores, como la epinefrina y la noradrenalina, también regulan los genes para flagelos y motilidad, lo que permite a las bacterias encontrar un nicho adecuado en el intestino¹⁵¹.

Ciclo de infección (Transmisión)

Escherichia coli es miembro de la microbiota intestinal de humanos, animales y pájaros. La bacteria se vierte rutinariamente en el medio ambiente a través de las heces, y puede contaminar el agua potable, el agua de riego y el suelo, en consecuencia, las frutas y verduras frescas, especialmente si se usan abonos sin tratar como fertilizantes. Los productos frescos contaminados pueden incluso albergar algunas bacterias dentro de los tejidos vegetales. EHEC llega al intestino desde alimentos o agua contaminados y coloniza el intestino. *E. coli* O157: H7, es resistente a los ácidos; Puede pasar por el estómago ileso y llega al intestino delgado. Una pequeña dosis infecciosa de 50 a 100 células es suficiente para causar infección. Además, debido a la exposición previa de las células al ácido leve, como sucede con los alimentos ácidos, como la sidra de manzana o el salami duro fermentado, la bacteria logra volverse más resistente al pH bajo y garantiza una mejor supervivencia durante el tránsito a través del estómago¹⁵².

El ganado es el reservorio natural de STEC y esta cepa se encuentra usualmente en el intestino de los animales sin causar enfermedad. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) se puede transmitir a través de la carne, la cual se adquiere durante el sacrificio a través del contacto fecal y oculto. Los brotes de *E. coli* O157:H7 se han asociado a alimentos de origen animal (especialmente carne molida de res), productos lácteos, mayonesa, sidra de manzana, lechuga y espinacas, siendo frecuentes en los Estados Unidos, Europa y Canadá. Los síntomas de la infección por EHEC / STEC aparecen de 3 a 9 días después de la ingestión de alimentos contaminados y generalmente duran de 4 a 10 días. Los síntomas de colitis incluyen una aparición repentina de calambres abdominales, diarrea acuosa (El 35-75% de los casos se vuelve sanguinolenta) y vómitos. El daño a los vasos sanguíneos en el colon es responsable de la diarrea con sangre y la colitis hemorrágica. Stx puede dañar las células endoteliales en el riñón y se presenta el síndrome urémico hemolítico (SUH) que se desarrolla en 5 a 10% de los pacientes infectados por STEC. El SUH se caracteriza por insuficiencia renal aguda, hipertensión, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia. La infección por EHEC puede ser

fatal, particularmente en niños menores de 5 años y ancianos. Aproximadamente el 1-2% de los pacientes mueren durante la fase aguda de la enfermedad, y aproximadamente el 30% de los pacientes presentan daño renal a largo plazo. Aunque el riñón es el órgano objetivo primario, otros órganos como los pulmones, el sistema nervioso central, el páncreas y el corazón también se ven afectados. La púrpura trombocitopénica trombótica (TTP) puede resultar del coágulo de sangre en el cerebro, provocando convulsiones, coma y muerte. Los pacientes más gravemente afectados requieren transfusión de sangre y terapia de diálisis¹⁵³.

Diagnóstico de laboratorio

A diferencia de otras cepas comensales, *E. coli* O157: H7 generalmente no fermenta sorbitol y no tiene actividad de β -glucuronidasa (GUD), su temperatura óptima es de 30–42 ° C. Se han identificado cepas resistentes a pH 4.5 o inferior (pH 3.6–3.9), y la resistencia a los ácidos está mediada por RpoS, un factor sigma¹⁵⁴.

El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) es el formato de ensayo de anticuerpos más frecuente utilizado para la detección de patógenos en alimentos. La producción de *Stx* 1 y *Stx* 2 puede probarse mediante ensayos de citotoxicidad en células de cultivo de tejidos Vero o HeLa o mediante kits ELISA o RPLA disponibles en el mercado¹⁵⁵.

El análisis del hisopo rectal por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) puede ser útil cuando no hay una muestra de heces disponible¹⁵⁶. Este método molecular es el más comúnmente empleado, sin embargo, existe un grave problema de los métodos de PCR asociados con la matriz de la muestra debido a los inhibidores de PCR en las muestras biológicas, como la sangre, las heces y la orina. Otro método molecular importante, es el inmunoensayo basado en la unión específica de antígeno / anticuerpo, el cual es rápido y rentable, pero sufre de baja sensibilidad. De acuerdo con Li y colaboradores se propuso un biosensor electroquímico ultrasensible basado en la estrategia de amplificación múltiple a través del caminante de ADN 3D, amplificación de círculo rodante (RCA) y reacción en cadena de hibridación (HCR) para la detección precisa de *E. coli* O157: H7. El método

propuesto proporciona una nueva vía para el diagnóstico temprano de microorganismos patógenos u otras enfermedades¹⁵⁷.

Tratamiento

Se estima que la progresión de la infección por STEC a STEC-SUH ocurre en 2 – 14% de los casos esporádicos y hasta 20% en brotes. La terapia de apoyo sigue siendo la base del tratamiento de STEC-SUH, controlando el equilibrio de líquidos, las anomalías electrolíticas y la hipertensión si está presente. Hasta el 80% de los pacientes necesitarán una transfusión de sangre o plaquetas durante su enfermedad. El AKI oligoanúrico, la sobrecarga de líquidos, la hiperpotasemia o la uremia refractaria es compatible con la terapia de reemplazo renal (TSR), comúnmente peritoneal o hemodiálisis¹⁵⁸.

Los antibióticos no deben formar parte del tratamiento de los pacientes con enfermedad por *E. coli* productora de toxina Shiga, ya que probablemente aumentan el riesgo de SHU en una etapa posterior. Finalmente, para prevenir la infección hay que aplicar medidas de control en todas las etapas de la cadena alimentaria, desde la producción agropecuaria en la granja hasta la elaboración, fabricación y preparación de los alimentos en las cocinas tanto de establecimientos comerciales como de los hogares. Entidades como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el USDA-FSIS (Servicio de Inspección de Seguridad Alimentaria) han impuesto una tolerancia cero para O157: H7 junto con otros serotipos importantes de EHEC los cuales expresan Stx y Eae ya que se consideran adulterantes si están presentes en la carne¹⁵⁹.

3.9 *Shigella* spp.



Figura 13. *Shigella* spp. Fuente: http://microypara.facmed.unam.mx/?page_id=2

Shigella spp. son patógenos intracelulares gramnegativos los cuales pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*. Sus bacilos son de tamaño intermedio (0.3 a 1 x 1 a 6 μm)¹⁶⁰. No presentan movilidad y son anaerobios facultativos. La bacteria crece entre 7 ° y 46 ° C, con una temperatura óptima de 37 ° C. Las células bacterianas no son tan frágiles como se pensaba y pueden sobrevivir durante días bajo exposiciones físicas y químicas severas, como refrigeración, congelación, NaCl al 5% y medios con un pH de 4.5. *Shigella* es sensible a los tratamientos térmicos y es eliminada por la pasteurización, sin embargo, puede multiplicarse en muchos tipos de alimentos cuando se almacenan en sus rangos de temperatura de crecimiento. El género *Shigella* tiene cuatro especies, que a veces se designa como subgrupos, *S. dysenteriae* pertenece al grupo A y tiene 15 serotipos; *S. flexneri* es el subgrupo B con 19 serotipos; *S. boydii* es el subgrupo C con 20 serotipos; y *S. sonnei* es el subgrupo D con un serotipo. De estos, se sabe que *S. dysenteriae* tipo 1 causa epidemias mortales; *S. flexneri* y *S. sonnei* son responsables de brotes endémicos; *S. boydii* causa una enfermedad rara. El brote relacionado con *S. boydii* es común en el subcontinente indio. *Shigella dysenteriae* y *S. flexneri* son responsables de la shigelosis en países en desarrollo, en partes de Asia y África subsahariana, y *S. sonnei* causa brotes esporádicos en países industrializados transmitidos por agua contaminada o alimentos poco cocinados¹⁶¹.

Patogenia e Inmunidad

Shigella expresa múltiples factores de virulencia codificados en un plásmido grande. Los genes de virulencia principales están codificados en una isla de patogenicidad (PAI) de 30 kb, así como están dispersos en un plásmido grande. Las proteínas de virulencia son importantes para la invasión bacteriana, el crecimiento intracelular, la propagación de célula a célula, la destrucción de las células huésped y la evasión del sistema de defensa innato del huésped. Las proteínas de virulencia se entregan

a la célula huésped mediante el sistema de secreción tipo III (T3SS). Después de ser ingerido con bebidas o alimentos contaminados, las bacterias colonizan el colon y la membrana mucosa rectal. La dosis de infección es muy baja, de 10 a 100 células, debido, en parte, a su capacidad para sobrevivir al ácido gástrico (pH 2.5). Las bacterias atraviesan la barrera epitelial al pasar a través de las células M fagocíticas naturales. Después de llegar a la ubicación subcelular, son engullidos por macrófagos, neutrófilos y células dendríticas. Las bacterias matan estas células por apoptosis e invaden las células epiteliales en el lado basolateral induciendo el fruncido de la membrana y la macropinocitosis, un proceso denominado "mecanismo desencadenante". Este proceso es ayudado por la capacidad bacteriana de administrar muchas proteínas de virulencia o efectores por T3SS. Las bacterias se liberan del fagosoma con la ayuda de IpaB, evitan la autofagia con IcsB, se mueven dentro de la célula induciendo la polimerización de actina con la ayuda de IcsA e infectan la célula vecina. La infección provoca la liberación de altos niveles de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-8, IL-18) que reclutan neutrófilos y células NK. El daño de las células epiteliales inducidas por bacterias y la activación de neutrófilos provocan inflamación masiva caracterizada por ulceración y hemorragia, y los pacientes muestran signos de heces con sangre mucopurulenta, calambres abdominales y tenesmo¹⁶².

Las especies de *Shigella* producen 3 tipos de enterotoxinas: la enterotoxina 1 de *Shigella*, que se encuentra en *S. flexneri*; la enterotoxina 2 de *Shigella*, encontrada en muchas shigelas pero no en todas; y la toxina Shiga (Stx), que es producida por *S. dysenteriae* tipo 1. El gen para la enterotoxina 1 de *Shigella* se encuentra en el cromosoma, la enterotoxina 2 de *Shigella* en el plásmido de virulencia y la Stx en el cromosoma (un gen transmitido por bacteriófagos). Stx es una toxina de tipo A – B con una masa molecular aproximada de 70 kDa. La subunidad A es de 32 kDa, y la subunidad B es un pentámero, cada uno con 7,7 kDa. Stx se libera tras la lisis de la célula después de la activación del fago lítico. La subunidad B de Stx se une al receptor, globotriaosilceramida (Gb3), un glicolípido y permite la entrada de la subunidad A en la célula. La subunidad A inhibe la síntesis de proteínas en el ARN 28S del ribosoma de la célula huésped 60S. La toxina Shiga exhibe una multitud de

actividades: actúa como una enterotoxina e induce la acumulación de líquido; actúa como una neurotoxina, bloquea los impulsos nerviosos causando parálisis; y actúa como una citotoxina, matando las células al inhibir la síntesis de proteínas y desencadenar la apoptosis. El principal sitio de acción de la toxina Shiga está en el túbulo renal, que es rico en receptor Gb3. La toxina daña el túbulo causando insuficiencia renal aguda, y la sangre se excreta en la orina, causando el síndrome urémico hemorrágico (SUH). La Stx también causa daño al endotelio colónico de los vasos sanguíneos, causando heces con sangre. Otra secuela de la shigelosis es el desarrollo del síndrome de Reiter o la artritis reactiva debido a una enfermedad autoinmune. Además, la liberación de LPS induce una mayor producción de IL-1 y TNF- α , que provocan el síndrome de shock tóxico. El aumento de la producción de citocinas también induce daño vascular e insuficiencia renal¹⁶³.

Ciclo de infección (Transmisión)

Las especies de *Shigella* se encuentran usualmente en el agua contaminada con heces humanas, y la ruta fecal-oral es el principal modo de transmisión, en los países económicamente bajos, el agua y los alimentos contaminados son las principales fuentes, y la enfermedad se asocia principalmente con condiciones de vida insalubres. Muchas comunidades no tienen acceso a baños sanitarios; así, las prácticas de baño al aire libre permiten la transmisión bacteriana directa a los suministros de alimentos y agua. La shigelosis se caracteriza por diarrea con sangre mucoide, que generalmente es autolimitada. Los síntomas aparecen dentro de las 12 h a 7 días, pero generalmente en 1 a 3 días. En el caso de infección leve, los síntomas duran de 5 a 6 días, pero en casos severos, los síntomas pueden persistir de 2 a 3 semanas. Los síntomas típicos de la disentería incluyen anorexia, fiebre, colitis, heces con sangre mucopurulentas, calambres abdominales y tenesmo, una sensación de evacuación incompleta del intestino con dolor rectal. La inflamación en la lámina propia y la capa mucosa produce edema, eritema y hemorragia de la mucosa. En adultos, la enfermedad es auto limitada y se resuelve en 5 a 7 días. Algunas personas pueden incluso no desarrollar síntomas, y en el caso de una persona infectada elimina el patógeno mucho después de que los síntomas hayan

desaparecido. En general, los niños son más susceptibles a la shigelosis que los adultos, y es fatal en éstos, especialmente cuando sufren de desnutrición ya que muestran deshidratación, megacolon, prolapso rectal, perforaciones intestinales e infección generando un alto riesgo de mortalidad. Se observan trastornos neurológicos que incluyen letargo, dolor de cabeza y convulsiones. En algunos pacientes, el SUH puede desarrollarse y provocar insuficiencia renal¹⁶⁴.

Diagnóstico de laboratorio

Shigella spp. pueden aislarse de la muestra de heces, pero las bacterias permanecen viables durante un corto período fuera del cuerpo humano; por lo tanto, las heces deben analizarse de inmediato o almacenarse en los medios apropiados. Además, las heces deben recogerse en la fase temprana de la infección, antes de que comience el tratamiento con antibióticos, para garantizar el aislamiento de las bacterias. En cuanto a métodos inmunológicos el inmunoensayo enzimático (EIA), la prueba de aglutinación de látex (LA) y los inmunoensayos con tira reactiva se utilizan para la detección de especies de *Shigella*. La prueba LA disponible comercialmente denominada prueba Wellcolex Color *Shigella* (WCT-*Shigella*) tiene una precisión superior al 90% para la detección. Del mismo modo, los kits comerciales EIA están disponibles para *S. dysenteriae* (Shigel-Dot A), *S. flexneri* (Shigel-Dot B), *S. boydii* (Shigel-Dot C) y *S. sonnei* (Shigel-Dot D). Estos ensayos de EIA se realizan en la membrana y también se conocen como ensayo dot blot y tienen una tasa de éxito superior al 94%. Se han desarrollado métodos de PCR convencionales para detectar diversas especies de *Shigella*. El límite de detección para la mayoría de estos ensayos es de 1 a 1×10^4 ufc g⁻¹ de muestras de alimentos. La secuenciación del genoma completo ahora se usa para identificación, tipificación de cepas y seguimiento de fuentes¹⁶⁵.

Tratamiento

Shigella spp. están presentes tanto en ubicaciones extracelulares como intracelulares durante la infección y, por lo tanto, se cree que los sistemas inmunes humoral y celular son importantes para erradicar el patógeno. La terapia más importante es la rehidratación, y el líquido que contiene electrolitos se administra

por vía oral o intravenosa. El tratamiento con antibióticos es controvertido ya que *Shigella* ha desarrollado resistencia contra los antibióticos. El tratamiento de la shigelosis varía según la gravedad de la infección. Sin embargo, para casos severos, los antibióticos normalmente se administran junto con la fluidoterapia para prevenir la deshidratación. Los antibióticos más comunes utilizados son ampicilina, trimetoprima / sulfametoxazol, ácido nalidíxico o ciprofloxacina. La estrategia de vacunación parece ser una solución probable para los países en desarrollo. La vacuna debe ser efectiva contra 17 serotipos epidemiológicamente importantes de *Shigella*, incluidos *S. dysenteriae* tipo 1, 15 serotipos de *S. flexneri* y *S. sonnei*¹⁶⁶.

Actualmente se están desarrollando varias vacunas que incluyen el uso de cepas de tipo salvaje atenuadas sin genes de virulencia y una vacuna conjugada que incluye el polisacárido *Shigella*-O conjugado con una proteína transportadora. Muchas de estas vacunas ahora han pasado por los ensayos de fase I y II, y algunas incluso están en ensayos clínicos de fase III y deberían estar disponibles para su uso en el futuro cercano. Finalmente, *Shigella* representa 125 millones de casos de disentería anualmente, y 13.2 de cada 1000 niños menores de cinco años sufren de shigelosis en todo el mundo. En los países económicamente altos, la shigelosis transmitida por los alimentos es originada por la contaminación de los alimentos, incluidos los productos frescos (frutas y verduras) por manipuladores de alimentos que eliminan el patógeno en las heces y tienen una higiene personal deficiente. Por lo tanto, se debe prohibir a los manipuladores de alimentos que se sospeche estén infectados preparar o servir alimentos listos para comer. Además, la educación adecuada de los manipuladores de alimentos sobre la importancia de una buena higiene personal y la sospecha de enfermedad digestiva de servir a otros es importante. El uso de normas sanitarias rígidas para evitar la contaminación cruzada de los alimentos listos para el consumo, el uso de agua adecuadamente clorada para lavar las verduras que se utilizarán en las ensaladas y la refrigeración de los alimentos son necesarios para reducir la shigelosis transmitida por los alimentos¹⁶⁷.

3.10 *Burkholderia mallei*



Figura 14. *Burkholderia mallei*. Fuente: <https://alchetron.com/Burkholderia-mallei#burkholderia-mallei-a4d8a825-4914-4e27-ae4c-ecff0075b92->

B. mallei es una bacteria gramnegativa, inmóvil, aeróbica, con forma de bastón, de 0.3-0.8 μm de ancho y 2-5 μm de largo. La microscopía electrónica de este microorganismo ha revelado una estructura en forma de cápsula que cubre la bacteria. Esta cápsula ha demostrado ser un factor de virulencia importante y se cree que protege contra los factores ambientales adversos. El organismo crece aeróbicamente en medios ordinarios y anaeróbicamente solo en presencia de nitrato¹⁶⁸.

Burkholderia mallei es un patógeno infeccioso intracelular cuya virulencia y resistencia a los antibióticos lo convierten en un posible agente bioterrorista¹⁶⁹.

Patogenia e Inmunidad

Dado su origen genético como organismo comensal del suelo, *B. mallei* contiene mecanismos adaptados para hacer frente y modular los entornos de las células huésped como: detección de quórum, adhesión, grupos de genes de polisacáridos capsulares y lipopolisacáridos, motilidad basada en actina, y dos sistemas de secreción; el T3SS y T6SS. Las proteínas secretadas, conocidas como proteínas "efectoras", interactúan y se apropian de proteínas y vías humanas críticas, que permiten que el patógeno sobreviva y se propague en el entorno del huésped. Estas interacciones inducidas abarcan la alteración de la señalización de la célula huésped, las modulaciones del citoesqueleto, la modificación de ubiquitina, la supresión de la autofagia y el control apoptótico / piroptótico¹⁷⁰.

Para el T3SS se han notificado proteínas de virulencia en un modelo animal de infección, las cuales son: BopA, BipB, BipC, BipD, BopE, BsaU y BapB; BopA es una proteína efectora requerida para la internalización y para promover la supervivencia bacteriana, la proteína BipD está involucrada en la regulación de la transcripción y la formación de la proteína superior de la aguja de secreción. Las proteínas BsaU y BapB tienen un papel importante en el escape bacteriano de las vesículas endocíticas e interferencia con la ubiquitinación del huésped. En cuanto

al T6SS las proteínas Hcp y VgrG son sus principales componentes, este sistema está regulado por el sistema de dos componentes VirAG. Los genes relacionados con *VirAG* abarcan *bimA*, *tssA*, *hcp1* y *tssM*, dichos genes son necesarios para la virulencia de T6SS en un modelo de infección de hámster¹⁷¹.

Ciclo de infección (Transmisión)

Burkholderia mallei es el agente causante de muermo, esta enfermedad afecta principalmente a los équidos (como caballos, burros y mulas). La ruta de transmisión de esta enfermedad es por inhalación, inoculación percutánea o ingestión. *B. mallei* es altamente infeccioso en aerosol, y la infección requiere solo unas pocas bacterias¹⁷².

El muermo humano ocurre por el contacto con animales infectados. La enfermedad puede manifestarse en cuatro formas dependientes de la ruta de exposición: formas locales cutáneas, pulmonares, septicémicas y crónicas. Los síntomas iniciales incluyen fiebre, malestar, dolores musculares y dolor de cabeza. La forma cutánea es una infección localizada con ulceraciones formadoras de pus en la piel, que pueden extenderse por el cuerpo. Infecciones asociadas con membranas mucosas de la nariz, tráquea, faringe, y los pulmones resultan en ulceración purulenta. La forma pulmonar se asocia con neumonía, abscesos pulmonares y derrames pleurales. Las radiografías de tórax revelan infecciones localizadas en los lóbulos de los pulmones. La forma septicémica es fatal, resultando en la muerte en pocos días si no se trata. La forma crónica, también conocida como “farcy”, se asocia con la formación de abscesos múltiples en los músculos de los brazos y las piernas, o en el bazo, el hígado y las articulaciones. Incluso con el tratamiento en esta etapa, hay una alta tasa de mortalidad con frecuentes recaídas de infección¹⁷³.

El período de incubación en condiciones de campo varía de 6 días a varios meses, y estas variaciones dependen de la susceptibilidad de la especie, la virulencia de la cepa, el sitio de infección y las vías de transmisión. En estudios experimentales, se informaron signos clínicos dentro de los 3 días posteriores a la exposición¹⁷⁴.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de muermo basado sólo en características clínicas no está disponible y requiere un cultivo positivo de *B. mallei* con muestras clínicas como sangre, exudado o abscesos de pus. Los métodos de cultivo se usan habitualmente y a menudo sirven como el estándar adecuado para el diagnóstico. Sin embargo, se recomienda incubar un aislado de cultivo durante 72 h a 37°C debido al lento crecimiento de la bacteria, seguido de una confirmación por PCR. De este último se han desarrollado métodos para detectar un bajo número de bacterias en varias muestras clínicas debido a la sensibilidad, especificidad y precisión asociadas con la técnica, de acuerdo con un estudio se indicó que la secuencia del gen 16s rRNA utilizada con los cebadores apropiados puede identificar y diferenciar *B. mallei* de *B. pseudomallei* y puede ser un diagnóstico más rápido en comparación con las pruebas bioquímicas y las observaciones tradicionales de morfología de colonias. Otros métodos como la prueba CFT (Prueba de fijación del complemento) y maleinización se han utilizado para detectar muermo en equinos según la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) como pruebas serológicas en el comercio internacional de animales. Por otro lado, las pruebas serológicas como la de ELISA INDIRECTA usando proteínas recombinantes específicas de *B. mallei* para detectar anticuerpos mostraron 100% de sensibilidad y 98.88% de especificidad en sus resultados¹⁷⁵.

Tratamiento

El tratamiento de muermo implica la administración intravenosa de imipenem, ceftazadina y doxiciclina durante 2 semanas, seguido de una fase de erradicación mediante la administración oral de azitromicina y doxiciclina durante 6 meses adicionales. Este régimen de tratamiento es levemente efectivo y está asociado con la recaída de la enfermedad. Los nuevos medicamentos anti muermo se enfocan en mitigar los desafíos de los tiempos prolongados de tratamiento, la ruta y la gravedad de la infección. La granulicina es un péptido antimicrobiano de amplio espectro miembro de la familia de proteínas tipo saponina previamente evaluadas contra *B. mallei*. El suministro de granulicina puede servir como un fármaco terapéutico contra

B. mallei, dada su actividad contra la viabilidad de las células bacterianas. Actualmente, no existe una vacuna autorizada para uso humano o animal contra el muermo. Finalmente, aún con las intervenciones veterinarias y programas de control nacional se sigue informando sobre muermo en algunos países de Medio Oriente, Brasil y se cree que es endémico en varias áreas de Asia, África y América del Sur. En tales países, las circunstancias económicas y culturales pueden dificultar el sacrificio de animales asintomáticos, lo que permite la persistencia del muermo¹⁷⁶.

3.11 *Burkholderia pseudomallei*



Figura 15. *Burkholderia pseudomallei*.

Fuente:

<https://www.ktoo.org/2016/01/11/germ-can-live-decades-distilled-water-kill-humans-48-hours/>

B. pseudomallei es una bacteria gramnegativa, móvil, no formadora de esporas, mide 0.4-0.6 μm de ancho y 2-5 μm de longitud. Las bacterias exhiben una tinción bipolar característica y se ven solas, en pares o muy ocasionalmente en cadenas. El organismo crece aeróbicamente en muchos medios simples y crecerá bajo condiciones estrictamente anaeróbicas en un medio complejo que contiene nitrato¹⁷⁷.

Patogenia e Inmunidad

La diversidad de los genes codificadores de proteínas expresados por *B. pseudomallei* permiten que el organismo sobreviva tanto en el medio ambiente como en un huésped mamífero. Un reciente estudio proteómico describió cómo las proteínas son producidas diferencialmente por un aislamiento ambiental antes y después de la adaptación del huésped, lo que sugiere que la bacteria ha desarrollado mecanismos separados para la supervivencia intra-mamífero-ambiental, además puede producir diferentes proteínas o hidratos de carbono que son críticos para la infección en distintos focos dentro del huésped siendo capaz de sobrevivir extracelularmente, unirse e invadir células no fagocíticas. Si bien la interacción entre *B. pseudomallei* y las células no fagocíticas no ha sido bien definida, la evidencia sugiere que esto se logra gracias a 2 proteínas denominadas BoaA y BoaB, las cuales son homólogas y se predice que comparten un dominio que es miembro de la familia Oca de auto transportadores y adherencias. Una segunda familia de genes que contribuyen a la adhesión de la célula huésped son los genes codificadores de pili tipo IV¹⁷⁸.

B. pseudomallei también utiliza el T3SS. Se ha demostrado que la proteína efectora BipC es un componente integral de los procesos de adhesión, invasión y supervivencia. Mecánicamente, la proteína efectora se une a la proteína actina del huésped; BipC puede polimerizar la proteína del huésped in vitro, similar a la

actividad de BimA, otra proteína de *B. pseudomallei* en el T3SS. Al modular la polimerización / despolimerización de la actina, la bacteria puede afectar la integridad de la célula huésped, permitiendo el movimiento intra y / o intercelular. La propagación de la bacteria entre las células huésped (fagocitos o no fagocitos) es un factor crítico en la diseminación del patógeno. Las bacterias utilizan varios factores bacterianos y de la célula huésped para la translocación, incluida la movilidad, la alteración de la membrana y la fusión de la célula huésped. El genoma de *B. pseudomallei* alberga 6 grupos completos de genes T6SS (T6SS 1–6), una proteína efectora T6SS adicional que es crítica durante la infección es Hcp-1; las mutaciones en el gen que codifica la proteína producen una disminución de la citotoxicidad en los estudios de infección por fagocitos y contribuyen a la formación de células gigantes multinucleadas. Además, la proteína Hcp-1 provoca una respuesta inmune dentro del huésped. Estos hallazgos indican que tanto T3SS como T6SS contribuyen a la supervivencia del patógeno en el huésped¹⁷⁹.

Ciclo de infección (Transmisión)

B. pseudomallei provoca la melioidosis, una enfermedad grave y a menudo mortal de humanos y animales¹⁸⁰. Puede persistir y transmitirse por el suelo durante años; un suelo óptimo para la supervivencia es rico en hierro, con un pH ácido y un contenido de agua del 40%. La ruta de transmisión de esta enfermedad es por inoculación cutánea, ingestión e inhalación. La interrupción del suelo por la lluvia, el viento o los animales (incluidos los humanos) da como resultado la aerosolización del organismo, lo que permite una distribución más amplia en el ambiente. La temporada de lluvias en áreas endémicas provoca una afluencia de casos de melioidosis por inhalación, probablemente debido a cambios en la química del suelo junto con la aireación del organismo. La transmisión de persona a persona se ha registrado mediante la ingestión de leche materna infectada, transmisión vertical y transmisión sexual. También se ha informado de infección por exposición al laboratorio. El período de incubación de la melioidosis consta de 1 a 21 días, con un promedio de 9 días. Los pacientes con melioidosis se presentan con una amplia gama de signos clínicos, desde lesiones cutáneas hasta neumonía y bacteriemia. El

sitio de colonización dentro del huésped y el resultado se asocian al modo de transmisión. La inoculación cutánea, a través de una abrasión de la piel, puede causar úlceras en la piel que pueden conducir a bacteriemia. La ingestión de *B. pseudomallei* produce una mayor incidencia de bacteriemia que la neumonía. La transmisión por inhalación comúnmente produce neumonía (~ 50% de los casos), con el patógeno diseminándose desde el pulmón, resultando en una septicemia, en menos casos, lo que resulta en altos niveles de morbilidad y letalidad. Los factores de riesgo para la enfermedad incluyen ciertas predisposiciones como: diabetes mellitus, enfermedad hepática o renal crónica, abuso de alcohol, uso prolongado de esteroides, neoplasia hematológica, neutropenia o disfunción de neutrófilos, enfermedad pulmonar crónica, talasemia o formas de inmunosupresión. La diabetes mellitus es la principal afección asociada con la melioidosis aguda y la tasa de mortalidad general asociada con la enfermedad cuando no se trata puede superar el 70%¹⁸¹.

Diagnóstico de laboratorio

Una característica de las colonias de *B. pseudomallei* es el perfil polimórfico. Al examinar el crecimiento de una sola cepa de *B. pseudomallei* en una superficie sólida, es común encontrar múltiples morfologías de colonias. La variedad de fenotipos puede atribuirse al estrés ambiental que se encuentra en diferentes nichos, ya que la bacteria altera sus dimensiones celulares en respuesta a los compuestos que se encuentran en el medio ambiente. Se están realizando esfuerzos para desarrollar diagnósticos rápidos y rentables que sean accesibles a las zonas rurales del mundo con infraestructura limitada. Se han aplicado diagnósticos de baja complejidad, como el inmunoensayo de flujo lateral (tecnología reconocida por su facilidad de uso en la prueba de embarazo en el hogar), para la detección de polisacáridos de *B. pseudomallei*; una versión de esa prueba ha pasado con éxito la fase de investigación básica a la evaluación en regiones endémicas. Los ensayos moleculares, basados tanto en PCR en tiempo real como en amplificación isotérmica, también se encuentran en etapas de desarrollo y optimización para la detección de *B. pseudomallei*. Los genes asociados a T3SS

son objetivos específicos y sensibles para la detección de esta bacteria mediante ensayos moleculares en una variedad de muestras clínicas. Además, los biomarcadores del huésped, específicos para pacientes con melioidosis, se están identificando no solo para diagnosticar la infección sino también para evaluar la progresión de la enfermedad¹⁸².

Tratamiento

Los CDC de EE. UU. recomiendan un tratamiento intensivo de dos fases para pacientes diagnosticados con melioidosis. La bacteria es intrínsecamente resistente a muchos antibióticos como gentamicina, múltiples β -lactámicos, rifampicina y eritromicina. En la mayoría de los casos, *Burkholderia* sigue siendo susceptible a la ceftazidima (CAZ), una cefalosporina de amplio espectro, lo que la implica en la primera línea de tratamiento para la mayoría de los casos de melioidosis. Sin embargo, la resistencia a CAZ está en aumento y el análisis molecular de los aislados resistentes inducidos in vivo indica mutaciones en el gen *penA*, también se ha documentado la resistencia a la doxiciclina, un segundo antibiótico comúnmente utilizado para tratar la melioidosis¹⁸³.

La importancia del diagnóstico y tratamiento tempranos se ha enfatizado en el tratamiento de la melioidosis septicémica aguda. Aunque, los síntomas son tan variados y la desaparición del paciente es tan rápida que, a menos que un médico esté alerta ante la posibilidad de una infección por *B. pseudomallei*, la enfermedad puede ser diagnosticada erróneamente. Cada caso clínico de melioidosis puede representar el resultado de uno de los tres procesos posibles: infección primaria, reinfección o reactivación de la enfermedad latente. La infección primaria parece casi inevitable en niños en el noreste de Tailandia, donde aproximadamente el 80% ha desarrollado anticuerpos contra *B. pseudomallei* a la edad de 4 años. En la mayoría de los casos, la melioidosis en adultos es el resultado de la reinfección o reactivación de infecciones latentes. Finalmente, también se informa de melioidosis en Singapur y el norte de Australia, con casos esporádicos que ocurren en las áreas circundantes. Los casos reportados en otras partes del mundo generalmente están asociados con viajeros que regresan de países endémicos¹⁸⁴.

3.12 *Chlamydia psittaci*

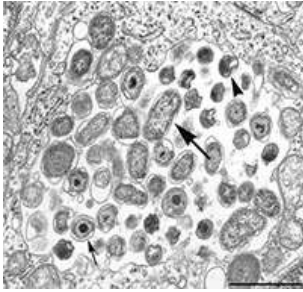


Figura 16. *Chlamydia psittaci*.

Fuente:

<https://www.cdc.gov/pneumonia/atypical/psittacosis/hcp/disease-specific.html>

Chlamydia psittaci es una bacteria gramnegativa, intracelular, globular que pertenece a la familia *Chlamydiaceae*¹⁸⁵, las cuales son bacterias parásitas estrictas. Estas bacterias se consideraron inicialmente virus debido a que son lo suficientemente pequeñas como para atravesar filtros de 0.45 μm , sin embargo, se ha demostrado que tienen características de bacterias¹⁸⁶.

C. psittaci se ha clasificado inicialmente en 9 genotipos: A – F, E/B, M56 y WC, utilizando el análisis de secuencia de la proteína de membrana externa A (ompA). Cada genotipo exhibe una fuerte preferencia por el huésped: A en aves Psitaciformes (Se considera que este genotipo es el más virulento en aves y humanos), B en Colombiformes; Se detectó el genotipo C en aves anseriformes y galliformes, D en galliformes, E en aves colombiformes, anseriformes y otras especies de aves, F en aves Psitaciformes y Galliformes, WC en bovinos y M56 en roedores. Posteriormente, se propusieron ocho nuevos genotipos (1V, 6N, Mat116, R54, YP84, CPX0308, I y J), que se han encontrado en psitácidos y aves silvestres. Todos los genotipos tienen un potencial zoonótico que los convierte en un riesgo para la salud humana¹⁸⁷. Cabe destacar que, de un modo parecido a una espora, los cuerpos elementales de *Chlamydia* son resistentes a muchos factores ambientales estresantes¹⁸⁸.

Patogenia e Inmunidad

C. psittaci se caracteriza por un ciclo de desarrollo bifásico único durante su curso de crecimiento. Se replica dentro de las vacuolas unidas a la membrana llamadas inclusiones después de la entrada en las células eucariotas, y alterna entre los cuerpos elementales infecciosos no replicantes (EB) y los cuerpos reticulados metabólicamente no infecciosos (RB). El ciclo de desarrollo de *Chlamydia* suele ser de 36 a 72 horas, los RB se diferencian de los EB de la descendencia. Los EB recién

formados se liberan por lisis o extrusión del huésped para contagiar las células vecinas, iniciando nuevas rondas de replicación¹⁸⁹.

De acuerdo con estudios *C. psittaci* utiliza un T3SS el cual desempeña un papel extremadamente importante en el proceso de infección y facilita la subversión de la célula huésped, permitiendo la proliferación y propagación de la bacteria. Los efectores administrados por *Chlamydia* en la membrana de inclusión y el citoplasma de la célula huésped pueden reaccionar directa o indirectamente sobre las proteínas celulares para modular diversas funciones de la célula huésped, el T3SS no solo atraviesa las membranas bacterianas (tanto la membrana interna como la externa) para exportar, o la membrana de inclusión (durante la replicación de RB) a la proliferación, sino que también abarca la membrana de la célula huésped (durante la invasión de EB) para inyectar dichos efectores en ella. Los estudios actuales demostraron que el T3SS posee una expresión / actividad continua durante el ciclo completo de desarrollo de *C. psittaci* en macrófagos humanos infectados. TARP, es un efector dependiente de T3SS, el cual es un nucleador de actina que contiene dominios de unión a actina (ABD), que pueden interactuar directamente con ésta, lo que aumenta la tasa de formación de filamentos de actina. Las proteínas Inc secretadas por T3SS se localizan en la membrana de inclusión y parecen ser el regulador central de la interacción *Chlamydia*-huésped dirigida a diferentes funciones celulares del huésped; IncA e IncB interactúan con la proteína del huésped G3PB1 y las proteínas motoras de la dineína y se han descrito en *C. psittaci*; IncA interfiere con la expresión de c-myc y da como resultado la supresión de la apoptosis del huésped para garantizar la proliferación del patógeno en la etapa inicial, e IncB provoca la unión de inclusiones de clamidias a la red de microtúbulos. CopN, un efector de T3SS en *C. pneumoniae*, también se identifica para interrumpir la formación de microtúbulos directamente para afectar el crecimiento de *Chlamydia*. Además, con la liberación asociada de patógenos, la lisis de la célula huésped también podría involucrar procesos apoptóticos desencadenados por otros efectores de clamidia. De acuerdo con Wen y colaboradores, CPSIT_0959 es una proteína de *C. psittaci* que contiene PLP (5'-fosfato de piridoxal), la cual es secretada en el citoplasma de la célula huésped

por *C. psittaci* mediante el T3SS durante la fase de desarrollo medio y cataliza la eliminación de azufre de L-Cisteína e induce la apoptosis de las células huésped a través de la vía de la apoptosis mitocondrial, mejorando la infectividad de los EB de la descendencia¹⁹⁰.

Ciclo de infección (Transmisión)

La psitacosis ocurre a través de la inhalación de excrementos y secreciones en aerosol al manipular animales, cadáveres o tejidos infectados, donde las heces y las plumas juegan un papel clave en la transmisión zoonótica. Las personas frecuentemente expuestas o en contacto con mascotas o aves cautivas, ya sea en su tiempo libre u ocupacional, son las que tienen un mayor riesgo de infectarse¹⁹¹.

C. psittaci también puede transmitirse en fómites como los alimentos o el agua contaminados. La forma infecciosa que se encuentra fuera de las células, denominada cuerpo elemental, es resistente a la sequedad y puede permanecer viable durante meses si está protegida por desechos orgánicos. Se ha informado que persiste en el alimento para aves hasta por dos meses, en el vidrio durante 15 días y en la paja durante 20 días. Los mosquitos, los ácaros y los piojos pueden estar involucrados en la transmisión mecánica. En los humanos, el periodo de incubación puede extenderse hasta un mes; la mayoría de las infecciones se tornan sintomáticas en 5-14 días. El comienzo de la psitacosis puede ser agudo o sutil. En general, en infecciones no complicadas, la enfermedad dura aproximadamente 7-10 días y puede ser autolimitante. Las mujeres embarazadas pueden tener un parto prematuro y posibilidad de abortos. También se pueden observar endocarditis, miocarditis, enfermedad renal, hepatitis, anemia y signos neurológicos tales como encefalitis, meningitis y mielitis. Es posible la presencia de insuficiencia multiorgánica. Se han informado formas atípicas de psitacosis¹⁹².

La presentación usual es fiebre, cefalea, sudoración, tos seca y mialgias. Suele presentarse de forma más común en varones adultos de edad media, teniendo más riesgo las personas relacionadas con la manipulación de pájaros (veterinarios, trabajadores de zoológico, pajarerías, granjas de pájaros y avicultores). La enfermedad afecta prácticamente a cualquier órgano (cerebro, hígado, pulmón,

riñón, bazo, articulaciones y corazón) y puede tener manifestaciones cutáneas (más frecuente eritema nodoso)¹⁹³.

Diagnóstico de laboratorio

La anamnesis (historia de contacto con pájaros), la sintomatología clínica y la afectación pulmonar de un único segmento lobar (más frecuentes en segmentos lobares inferiores) en la radiografía de tórax, suelen orientar hacia la presencia de la infección por *C. psittaci*. De acuerdo con los CDC se corrobora el diagnóstico con la presencia de sintomatología compatible con psitacosis, y la confirmación se realiza según los siguientes apartados: *a)* aislamiento de *C. psittaci* de secreciones respiratorias. Una elevación de 4 veces el título de anticuerpos de muestras de suero recogidas en un período separado de 2 semanas entre la fase aguda y convaleciente (detectado por fijación del complemento o micro inmunofluorescencia) a un título mayor o igual a 1:32, *b)* un título IgM único de 1:16 o mayor (por micro inmunofluorescencia o MIF). El cultivo es particular, ya que requiere del laboratorio con aislamiento de nivel 3, por el alto riesgo de contagio¹⁹⁴.

Los ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se utilizan para la detección rápida de animales infectados y para el diagnóstico de infección en pacientes humanos, además son extremadamente sensibles y evitan problemas con la baja viabilidad de los organismos¹⁹⁵.

Tratamiento

El tratamiento de elección es doxiciclina en dosis de 100 mg 2 veces al día, recomendando una duración de 14 días. Los macrólidos, como claritromicina y azitromicina son antibióticos de segunda elección cuando la doxiciclina está contraindicada¹⁹⁶.

En los casos no tratados hay un alto porcentaje de mortalidad, pero es inusual en pacientes tratados con antibióticos adecuados. Los humanos pueden infectarse durante una exposición transitoria, y se deben tomar precauciones durante el contacto con cualquier ave infectada. Los programas de prevención y evaluación en las aves ayudan a proteger a las personas. Las aves domésticas deben comprarse

en comercios confiables y ser examinadas por un veterinario luego de adquirirlas. Al manipular las aves, posteriormente se debe tener una buena higiene, que incluya el lavado de manos frecuente. Las aves y las jaulas deben mantenerse en un área bien ventilada y limpiarse regularmente en el caso de las jaulas para evitar la acumulación de polvo infeccioso y desperdicios utilizando equipos de protección personal (EPP) cuando se manipulan éstas o las aves¹⁹⁷.

3.13 *Coxiella burnetii*

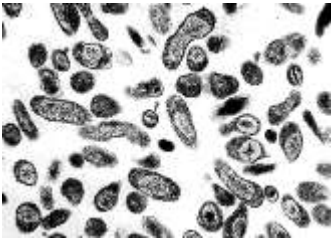


Figura 17. *C. burnetii*.

Fuente:

https://es.wikipedia.org/wiki/Coxiella_burnetii

Coxiella burnetii es una bacteria patógena gramnegativa intracelular que inicialmente se clasificó en el orden *Rickettsiales*, sin embargo, debido a que tiene un contenido genómico de 42.2% de guanosina más citosina se consideró que es más cercano al orden *Legionellales*.

C. burnetii es una bacteria cocoide pleomórfica que mide 0.2–0.4 μm de ancho y 0.4–1.0 μm de largo¹⁹⁸.

Patogenia e Inmunidad

C. burnetii tiene un ciclo de desarrollo bifásico, que consta de formas morfológicas: variantes de células pequeñas (SCV) y variantes de células grandes (LCV), que son infecciosas *in vitro*. La SCV está reprimida metabólicamente y es resistente a muchos estresores ambientales, incluidas las altas temperaturas y la limitación de nutrientes. La SCV es probablemente la forma del patógeno que inicia infecciones naturales. La LCV es más grande, metabólicamente activo, y competente en replicación, multiplicándose a números altos dentro de las células eucariotas. El análisis proteómico y los estudios de caracterización de proteínas sugieren que las proteínas abundantes de SCV están involucradas en la evasión inmune, mientras que las proteínas abundantes de LCV están relacionadas con la división celular y la supervivencia intracelular. Después de unirse a una célula huésped susceptible y ser absorbida por ella, las SCV de *C. burnetii* que albergan fagosomas transitan a través de la vía de maduración fagolisosómica. Los autofagosomas y los endosomas se fusionan rápidamente con el fagosoma para crear el fagosoma naciente. Desde la entrada de la célula huésped a ~6 h después de la infección, los endosomas, los autofagosomas y los lisosomas que contienen fosfatasa ácida se fusionan con el fagosoma naciente, formando la PV (Vacuola parasitofórica) temprana. A principios de la PV, *C. burnetii* pasa del SCV al LCV, se activa metabólicamente y produce el T4SS para translocar las proteínas efectoras en el citoplasma del huésped. La fusión continua con múltiples compartimentos intracelulares da como resultado la formación del compartimento PV ácido (pH ~5.0)

tardío. Después de aproximadamente 6 días, *C. burnetii* pasa de LCV a SCV nuevamente. La secreción continua del efector es necesaria para mantener la PV tardía expandida que en última instancia abarca la mayoría de las células infectadas. La fusogenicidad promiscua de la PV es única entre los patógenos bacterianos intracelulares. Los marcadores de membrana, las proteasas y las gotas de lípidos (LD), que participan en el metabolismo y la síntesis de membrana, están presentes dentro del PV¹⁹⁹.

Varios efectores translocados por T4SS modifican la PV y promueven el desarrollo adecuado de la vacuola. La proteína vacuolar B de *Coxiella* (CvpB; también conocida como Cig2) interactúa con fosfatidilinositol 3-fosfato y fosfatidilserina, alterando el metabolismo del huésped para promover la adecuada formación de PV y es necesaria para la localización de la proteína 3A / 1B de la cadena ligera 3 (LC3) asociada a los microtúbulos al PV. La actividad de CvpA es necesaria para la biogénesis de PV mediante la participación del transporte mediado por clatrina. Otros efectores que promueven el desarrollo de PV incluyen CvpC, que también involucra autofagia, CvpD y CvpE. Cig57 también se requiere para la formación óptima de PV y la replicación intracelular a través de la manipulación del tráfico vesicular. El efector de *Coxiella* para la replicación intracelular A (CirA) ayuda a la formación de PV a través de interacciones con Rho GTPasa y es necesario para la virulencia bacteriana. Por otro lado, los primeros estudios de infección mostraron que la virulencia de *C. burnetii* difiere según la estructura del lipopolisacárido del aislamiento (LPS). El LPS de longitud completa es producido por la mayoría de los aislamientos virulentos de *C. burnetii* (bacterias en la fase I; tipificado por el aislado de referencia RSA493 de Nine Mile I) y se predice que protegerá al organismo del reconocimiento por las células dendríticas. Mediante pases repetidos en células eucariotas o medio axénico, el LPS se trunca cada vez más hasta que *C. burnetii*, pierde la capacidad de causar enfermedades y es eliminado por los huéspedes inmunocompetentes, este proceso se conoce como variación de fase²⁰⁰.

Ciclo de infección (Transmisión)

C. burnetii es una bacteria ambientalmente estable y tiene la dosis infecciosa bacteriana más baja conocida por el hombre, con menos de 10 bacterias capaces de causar enfermedades. La infección se produce después de la inhalación de un huésped susceptible, y esta ruta de exposición a los aerosoles, combinada con la estabilidad ambiental y una baja dosis infecciosa, ha resultado en la clasificación del organismo como un agente selecto de categoría B con el potencial para el uso de armas biológicas. Debido a un modo de exposición en aerosol, la infección por *C. burnetii* se presenta primero como una enfermedad pulmonar aguda caracterizada por neumonía y síntomas similares a la gripe. La infección aguda se acompaña de fiebre alta prolongada y a menudo se diagnostica erróneamente debido a síntomas no descriptos. Sin embargo, las personas sanas pueden recuperarse de una enfermedad aguda sin intervención médica, lo que contribuye aún más al diagnóstico insuficiente. De hecho, mientras menos de 200 casos de fiebre Q aguda se diagnostican anualmente en los EE. UU., 3-5% de la población es seropositiva para *C. burnetii*. Por un mecanismo indefinido, la bacteria puede establecer una infección persistente que resulta en fiebre Q crónica. La enfermedad crónica puede manifestarse como hepatitis, osteomielitis, fibrosis y síndrome de fatiga crónica, pero la presentación más comúnmente observada es la endocarditis después de la diseminación hematogena de los pulmones. *C. burnetii* es responsable de la mayoría de las endocarditis infecciosas no cultivables reportadas en la clínica. Durante la infección crónica, *C. burnetii* se replica dentro de las células del corazón, promoviendo el crecimiento vegetativo en las válvulas del corazón; sin embargo, el nicho celular en este órgano no se ha determinado. El reemplazo de la válvula a menudo es necesario para erradicar la infección y, en contraste con la enfermedad aguda, la infección crónica es extremadamente difícil de tratar²⁰¹.

Se ha encontrado que las vacas lecheras, las cabras y las ovejas son los principales reservorios responsables de la infección humana que ocurre típicamente después de la inhalación de aerosoles infecciosos derivados de estos animales y sus productos²⁰².

Diagnóstico de laboratorio

Dada la naturaleza no específica de la fiebre Q, la sospecha clínica al evaluar una fiebre de origen desconocido es crítica para diagnosticar correctamente la enfermedad e iniciar una terapia antibiótica adecuada. La posterior confirmación de laboratorio normalmente implica la prueba con la presencia de anticuerpos específicos contra *C. burnetii*, que se desarrollan en pacientes 1 a 2 semanas después de la infección. La prueba serológica estándar de oro para la fiebre Q es un ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IFA) que se basa en la reactividad del suero con células fijas de fase completa I y fase II de *C. burnetii*. Un aumento de cuatro veces en el título de IgG entre muestras emparejadas tomadas con 2-3 semanas de diferencia, con anticuerpos dirigidos principalmente contra el antígeno de fase II, es diagnóstico de fiebre Q aguda. Por el contrario, en la fiebre Q crónica, los títulos de fase I son más altos que los títulos de fase II con un título de fase I de IgG de diagnóstico $\geq 1: 800$. La secuencia de inserción IS 1111 es el objetivo de elección en la detección por PCR de *C. burnetii* ya que el elemento repetitivo tiene múltiples copias genómicas, lo que aumenta la sensibilidad del ensayo. Esta tecnología ahora está restringida en gran medida a los laboratorios de referencia e investigación. Sin embargo, cuando se desarrolla una plataforma para uso rutinario, la PCR debe ser la prueba de elección para la confirmación de laboratorio STAT de un diagnóstico clínico. Cabe señalar que la tecnología basada en PCR es sensible principalmente en el estado temprano de la enfermedad. A medida que la enfermedad progresa, la sensibilidad de la prueba disminuye, presumiblemente porque los anticuerpos neutralizantes aclaran la sangre del paciente del agente infeccioso²⁰³.

Tratamiento

Si se diagnostica adecuadamente, los pacientes con fiebre Q aguda se tratan con un régimen de doxiciclina de 1 a 2 semanas para aliviar los síntomas (antígenos, indicativos de exposición previa). Esta estadística sugiere que la tasa de infección es mucho más alta que la cantidad de casos diagnosticados. En el caso de la fiebre crónica el régimen actual más efectivo es la doxiciclina combinada con

hidroxicloroquina por hasta 1.5 años. El tratamiento con antibióticos duales es necesario debido a la naturaleza ácida del nicho intracelular del patógeno (Hay una replicación preferencial en los macrófagos alveolares). El tratamiento combinatorio provoca un efecto bactericida y disminuye la recaída del paciente. Este régimen claramente no es un curso de tratamiento o pronóstico óptimo, lo que destaca la necesidad de mejores opciones terapéuticas. Además, una cepa resistente a la doxiciclina se aisló en 2005, lo que subraya aún más la necesidad de nuevas opciones de tratamiento mejoradas. Q-Vax es una vacuna actual, creada a partir de una cepa inactivada de Fase I de células enteras de *C. burnetii* (Henzerling RSA334), es la única vacuna comercialmente disponible contra la fiebre Q y proporciona inmunidad de por vida contra *C. burnetii*, lo que la hace extremadamente efectiva. Sin embargo, Australia es actualmente el único país que usa Q-Vax y aunque ha demostrado ser una herramienta importante para controlar los brotes de fiebre Q en dicho país, las advertencias a la vacuna permanecen. Uno de los mayores obstáculos para el uso generalizado de Q-Vax es que se debe realizar una evaluación previa para cada paciente antes de autorizar la vacunación porque la exposición previa a *C. burnetii* puede provocar reacciones graves localizadas y sistémicas. El proceso de preselección implica pruebas cutáneas y serológicas, y las personas que dan positivo no están autorizadas a recibir la vacuna. Logísticamente, este proceso no es plausible para ninguna estrategia de vacuna utilizada a nivel mundial²⁰⁴.

3.14 Enterotoxina B de *Staphylococcus* spp.



Figura 18. *Staphylococcus* spp. Fuente:

<http://www.betelgeux.es/blog/2019/11/22/staphylococcus-aureus/>

Staphylococcus aureus son cocos grampositivos (1 μm de diámetro) que aparecen microscópicamente como racimos en forma de uva debido a tres divisiones planas incompletas, son anaerobios facultativos positivos para catalasa, y crecen abundantemente en condiciones aeróbicas²⁰⁵.

Patogenia e Inmunidad

Staphylococcus aureus produce una familia de factores de virulencia como proteínas de adhesión, enterotoxinas, superantígenos, toxinas del síndrome de shock tóxico (TSST), toxinas exfoliativas (ET), hemolisinas formadoras de poros, toxinas ADP-ribosilantes y proteasas. Las toxinas más importantes se denominan enterotoxinas estafilocócicas (SE) y toxinas similares a SE (SEIs), que comparten cuatro propiedades comunes: (i) similitud estructural, (ii) resistencia al calor y enzimas proteolíticas, (iii) superantigenicidad, y (iv) actividad emética. Se informan veinticuatro SE principales serológicamente distintos: SEA a través de SEIX sin SEF. El SEF es similar a otros SE, pero en lugar de inducir la emesis, causa el síndrome de shock tóxico (TSS), por lo tanto, designado TSST-1. La SEB o enterotoxina B estafilocócica es una toxina de 28,4 kDa y es la más resistente al calor (estable a 60 ° C durante 16 h) entre todas las toxinas. SEB es resistente a las enzimas proteolíticas gastrointestinales como la tripsina y la pepsina, además es altamente tóxica y se requiere una dosis de 400 ng kg⁻¹ para los humanos. Tras el consumo de alimentos contaminados con enterotoxina, las toxinas se absorben y causan la gastroenteritis típica, mientras que las bacterias pasan a través del intestino sin causar ningún efecto adverso en el huésped. Los estudios realizados con SEA y SEB han demostrado que SE se une a los mastocitos submucosos e induce la desgranulación y la liberación de 5-HT (5-hidroxitriptamina), un neurotransmisor (también conocido como serotonina). 5-HT interactúa con el receptor 5-HT₃ en las neuronas aferentes vagales adyacentes en el revestimiento del estómago y estimula el centro del vómito medular (bulbo raquídeo) para inducir

un reflejo emético violento. Aunque se desconoce el receptor de mastocitos para SE, los estudios en células renales indican que el supuesto receptor de SE es un glucosfingolípido. SE también activa la vía de señalización de Ca^{2+} en las células epiteliales intestinales. Las enterotoxinas provocan daños en las células epiteliales intestinales que resultan en la destrucción de las vellosidades, distensión de las vellosidades, alargamiento de la cripta e hiperplasia linfoide²⁰⁶.

La propiedad superantigénica de las enterotoxinas estafilocócicas las distingue de otras toxinas bacterianas. Los superantígenos son las moléculas que tienen la capacidad de estimular un porcentaje excepcionalmente alto de células T (células CD4 + y CD8 +), liberación masiva de citocinas y shock sistémico. Las enterotoxinas atraviesan la barrera epitelial, ingresan a la circulación sanguínea y se unen a la cadena α de las moléculas MHC de clase II en la superficie de los macrófagos. La toxina se presenta a las células T que portan TCR (receptor de células T) hecho con cadena β , también llamadas células T portadoras de $V\beta$. Las células T proliferan y producen grandes cantidades de IL-2 e IFN- γ . Los niveles elevados de IFN- γ también inducen una mayor expresión de MHC de clase II en macrófagos y otras células, que a su vez se unen a más superantígenos y activan más células T. Las citocinas inflamatorias como IL-1 y TNF- α son producidas por macrófagos activados, y las citocinas inician el síndrome de shock tóxico típico con coagulación intravascular diseminada (DIC), fiebre alta, presión arterial baja, shock masivo y muerte. Las SE son generalmente resistentes al calor (121 ° C durante 10 min), y una enterotoxina desnaturalizada por calor puede volverse a desnaturalizar por almacenamiento prolongado o en presencia de urea. Las toxinas permanecen activas incluso después de hervir durante 30 minutos. En los alimentos, como los champiñones, son estables a 121 ° C durante 28 min. Las SE también son resistentes a la digestión proteolítica, como la tripsina y la pepsina, por lo que retienen la actividad en el tracto gastrointestinal para causar intoxicación alimentaria²⁰⁷.

Ciclo de infección (Transmisión)

Las bacterias resistentes a los medicamentos cobran millones de vidas directa e indirectamente cada año, entre estas bacterias, *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA) es altamente prevalente en los hospitales de todo el mundo²⁰⁸.

La intoxicación alimentaria por estafilococos es una de las enfermedades transmitidas por los alimentos más comunes en todo el mundo. Los estafilococos se pueden transmitir a los alimentos a través de los cuchillos de la picadora de carne y los manipuladores de alimentos. Las bacterias se replican en alimentos que se dejan a temperatura ambiente durante un período prolongado. Las enfermedades estafilocócicas transmitidas por los alimentos a menudo se asocian con alimentos cremosos preparados con leche y productos lácteos, aderezos para ensaladas, mariscos, carne y jamones, así como alimentos que requieren mayor preparación de mano. *S. aureus* puede crecer en un amplio rango de temperaturas (7–48°C; óptimo 30–37°C), pH (4–10; óptimo 6–7) y actividad del agua (A_w 0.83–0.99, óptimo 0.98), es altamente tolerante a la sal (hasta 20% de NaCl) y relativamente resistente al secado y al calor. Las enterotoxinas se producen a una temperatura de 10–46 ° C (óptima, 37–45 ° C), pH 4–9.6 (pH óptimo 7–8), A_w 0.85–0.99 (óptima 0.98) y NaCl 0–10% (óptimo 0%). La infección por estafilococos puede causar infecciones de la piel, como abscesos (ebullición, carbunco y forúnculo), síndrome de la piel escaldada por estafilococos, impétigo y celulitis. Las infecciones graves pueden causar endocarditis potencialmente mortal, osteomielitis, síndrome de shock tóxico, sepsis, fiebre alta, neumonía y síndrome de muerte súbita del lactante. Los síntomas de intoxicación gastrointestinal estafilocócica aparecen dentro de los 30 min a 8 h (promedio de 3 h) e incluyen hipersalivación, náuseas, vómitos violentos en chorros, calambres abdominales con o sin diarrea, dolor de cabeza, mareos, escalofríos y debilidad general. La pérdida significativa de líquido causará deshidratación e hipotensión. En casos severos, puede ocurrir dolor de cabeza, postración, presión arterial baja y shock anafiláctico. La tasa de mortalidad es muy baja, el 0.02% ocurre en las personas más susceptibles, bebés y ancianos. La enfermedad es autolimitada y puede resolverse en 24 a 48 h, pero los lactantes y

los ancianos pueden requerir hospitalización. En el caso de exposición a la enterotoxina en aerosol, puede aparecer fiebre repentina, escalofríos, dolor de cabeza y tos. La fiebre puede durar varios días y la tos de 10 a 14 días²⁰⁹.

Diagnóstico de laboratorio

Para el diagnóstico, se lleva a cabo el aislamiento en los medios de cultivo convencionales. Se han desarrollado métodos basados en sondas de ácido nucleico para la detección y enumeración de estafilococos como la detección basada en PCR de genes de enterotoxina, incluidos *egc* (grupo de genes de enterotoxina: SEA a SEE; SEG, SEH, SEI, SEM, SEJ, SEN y SEO), TSST-1, toxinas exfoliativas A y B (*etA* y *etB*), meticilina resistente a genes (*mecA*), y 16S rRNA de *S. aureus* ha sido reportado. La PCR en tiempo real basada en fluorescencia (TaqMan-PCR) se ha demostrado para las enterotoxinas A a D y *mecA* para un análisis rápido de una gran cantidad de muestras. Se desarrolló un microarray de ADN para la detección e identificación de 17 genes de enterotoxina estafilocócica (*ent*) simultáneamente. También se encuentran disponibles kits comerciales de análisis rápido que detectan *S. aureus* 23S rRNA. Un chip de matriz comercial llamado Staphychips también está disponible para la identificación de cinco estafilococos diferentes en un formato de matriz. Los inmunoensayos basados en ELISA se usan ampliamente para la detección de enterotoxinas. Los sistemas automatizados de detección comercial están disponibles. El límite de detección es $<0.5-1 \text{ ng g}^{-1}$ de enterotoxina. El inmunoensayo enzimático está disponible para la detección de superantígenos: SEA, SEB, SEC, TSST-1 y exotoxina pirogénica estreptocócica A (SPEA) en el suero sanguíneo. Finalmente se ha desarrollado un inmunoensayo de fluorescencia para SEB con un límite de detección de 100 pg por pocillo y es más sensible que el ensayo ELISA convencional. El inmunoensayo basado en microesferas magnéticas se ha utilizado para detectar SE en formato sándwich. Se encuentran disponibles pruebas rápidas de aglutinación de látex para SEA to SEE con un límite de detección de $0.5 \text{ ng / ml}^{210}$.

Tratamiento

Para el tratamiento de infecciones de la piel o infecciones sistémicas, se necesitan antibióticos y otras terapias de apoyo. La intoxicación alimentaria estafilocócica es principalmente autolimitada; por lo tanto, solo se recomiendan la fluidoterapia y el reposo en cama sin ningún tratamiento con antibióticos. Para prevenir la intoxicación alimentaria relacionada con *S. aureus*, es importante cocinar bien los alimentos, pero es fundamental prevenir la contaminación y la contaminación cruzada. Después de cocinar, los alimentos no deben dejarse a temperatura ambiente por más de 2 h, porque la temperatura permisiva para el crecimiento bacteriano y la producción de toxinas están entre 10 ° C y 46 ° C. Por lo tanto, los alimentos deben mantenerse a más de 60 ° C o enfriarse rápidamente a menos de 5 ° C o almacenarse refrigerados para evitar la producción de toxinas. Dado que una de las principales fuentes de *S. aureus* es la piel humana, el lavado de manos y el uso de guantes protectores, máscaras y mallas para el cabello antes de manipular los alimentos deberían reducir la posibilidad de contaminación de los alimentos. Mantener la cadena de frío durante la preparación y el procesamiento de los alimentos evitará el crecimiento bacteriano. Asegurar la calidad de las materias primas, los métodos de procesamiento, la limpieza adecuada y la desinfección de los equipos debe ser parte rutinaria de las prácticas de producción de alimentos para prevenir la contaminación y el crecimiento de patógenos en los alimentos. Las prácticas estrictas de higiene son cruciales para prevenir la intoxicación alimentaria por estafilococos. La implementación de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), buenas prácticas de fabricación (GMP), buenas prácticas de higiene (GHP) y análisis microbiológicos rápidos ayudarán a prevenir los patógenos en las instalaciones de fabricación de alimentos²¹¹.

3.15 *Vibrio cólera*



Figura 19. *Vibrio cólera*.

Fuente:

<https://www.cdc.gov/chole/ra/index.html>

El género *Vibrio* es miembro de la familia *Vibrionaceae* y contiene 63 especies, al menos 11 de ellas son patógenas para los humanos, entre ellas *Vibrio cholerae*. Su forma es una varilla gramnegativa o una bacteria de forma curva (0.7–1.0 × 1.5–3.0 μm). Es un anaerobio facultativo y

puede crecer dentro de un rango de temperatura de 15–45 ° C, un rango de pH de 6–10 y una concentración de sal

(NaCl) de hasta 6%, sin embargo, no requiere sal para crecer. La bacteria forma biopelículas en zooplancton y fitoplancton, que contienen quitina, y la bacteria puede usar la quitina como fuente de carbono y nitrógeno. Hay 206 serotipos conocidos basados en el antígeno O del lipopolisacárido (LPS), de los cuales dos serotipos principales, O1 y O139, son responsables del cólera epidémico. Las personas con el grupo sanguíneo O son más susceptibles al cólera que los otros grupos sanguíneos. El serotipo O1 causa una forma fatal de cólera, mientras que la forma O139 es generalmente menos virulento. Hay dos biotipos, clásico y El Tor, y comparten un antígeno LPS O común²¹².

Patogenia e Inmunidad

Todas las cepas que causan cólera tienen genes de virulencia para la toxina del cólera (CT) y los pili corregulados con toxina (TCP). Los genes de virulencia se encuentran en las islas de patogenicidad de *Vibrio* (VPI-1 y VPI-2). Otros factores que incluyen porinas de membrana externa, enzimas biosintéticas de biotina y purina, proteínas de membrana externa reguladas por hierro (IrgA) y antígeno O de LPS también son factores de virulencia conocidos. La bacteria es capaz de causar diarrea grave. Después de la ingestión, *V. cholerae* supera el pH bajo, los ácidos biliares, la osmolaridad elevada, la limitación de hierro, los péptidos antimicrobianos y la microflora natural, y puede crecer a títulos elevados en el intestino humano. Los reguladores de respuesta al estrés RpoS (σS) y RpoE (σE) ayudan a hacer frente a los estresores intrínsecos en el intestino. Los pacientes con cólera pueden arrojar 10⁷–10⁹ vibrios mL⁻¹ en las llamadas heces de agua de arroz. La adherencia y la

colonización de la mucosa del intestino delgado se ven facilitadas por los pili corregulados por toxinas (TCP), flagelos y neuraminidasa. La adherencia bacteriana y la colonización están influenciadas positivamente por la motilidad y la quimiotaxis. Un solo flagelo polar ayuda a cada bacteria a penetrar en la capa de la mucosa. Los largos pilis filamentosos llamados TCP (un pilus formador de heces tipo IV) ayudan a formar micro colonias y están involucrados en la colonización²¹³.

La capacidad de formar biopelículas en la superficie biótica y abiótica es una estrategia importante de supervivencia y colonización para *V. cholerae*. Después de la ingestión de biopelículas o células planctónicas por humanos, las bacterias en el intestino expresan TCP y forman agregados o biopelículas que ayudan a la colonización bacteriana en la mucosa intestinal. Las biopelículas también ayudan a las bacterias a evitar la respuesta inmune innata del huésped. La molécula sensora de quórum, autoinductor de cólera 1 (CA-1), se acumula en biopelículas y promueve la expresión del regulador de detección de quórum, HapR, que a su vez mejora la expresión del factor sigma, RpoS. RpoS ayuda a las bacterias a hacer frente a los estresores ambientales. La toxina del cólera (CT) es el factor de virulencia más importante en *V. cholerae*. Es una "toxina de ribosilación ADP" de tipo A – B. La subunidad A es una proteína de 27 kDa codificada por *ctxA*, y la subunidad B consta de cinco proteínas idénticas de 11.7 kDa y está codificada por *ctxB*. Las subunidades A y B se secretan en el periplasma, donde se ensamblan. La subunidad B de la toxina se une primero a la célula mucosa del huésped uniéndose al gangliósido receptor GM1. Este es un oligosacárido que contiene ácido siálico unido covalentemente al lípido de ceramida. Se encuentra en la superficie de muchas células. La toxina se internaliza y la subunidad A se separa. La subunidad A tiene la actividad enzimática; ADP-ribosila las proteínas Gs (compuestas de tres subunidades: α , β , γ) también conocidas como "proteínas hidrolizantes de GTP". Las proteínas G regulan la actividad del adenilato ciclasa de la célula huésped y sirven como interruptores de "apagado" y "encendido". La unión de la subunidad A a la subunidad Gs la bloquea en la posición "activada" y estimula la producción de adenosín monofosfato cíclico (AMPc). AMPc activa la proteína quinasa A, que a su vez provoca la fosforilación de la proteína, especialmente la

proteína CFTR (regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística) en la bomba de iones y, por lo tanto, altera la función del transporte de iones de Na⁺, Cl⁻ y HCO₃⁻ secreción por las células de la cripta y disminución de la absorción de Na⁺ y Cl⁻ por las células absorbentes. La bacteria también produce otras dos toxinas, ZOT (toxina zonula occludina: 44.8 kDa) y ACE (enterotoxina cólera accesoria). ZOT induce una reorganización de la F-actina y disminuye la G-actina y afecta los reordenamientos del citoesqueleto posiblemente mediados por la proteína quinasa C. En consecuencia, la unión estrecha pierde su función de barrera y aumenta la permeabilidad pericelular. ZOT también interrumpe el equilibrio iónico y promueve la diarrea. La toxina ACE es responsable de la diarrea en animales, pero probablemente no tiene ningún papel en la diarrea humana. Una hemolisina (HlyA: 65 kDa), también conocida como hemolisina El Tor, es responsable de la enterotoxicidad. Se une al colesterol y se oligomeriza en la membrana formando un poro de 1.2–1.6 nm. Otros factores de virulencia como los sideróforos también ayudan a la adquisición de hierro bacteriano de las células huésped²¹⁴.

Ciclo de infección (Transmisión)

Vibrio cholerae es el organismo más estudiado responsable de la diarrea secretora aguda conocida como cólera. La dosis infecciosa es $10^4 - 10^{10}$ ufc g⁻¹ y la enfermedad se propaga a través del agua y los alimentos contaminados, la transmisión se realiza por la ruta fecal-oral. Los síntomas de diarrea aparecen en 6 h – 5 días y pueden durar de 2 a 12 días. La diarrea se ve como "agua de arroz" con un olor fétido, y un paciente puede defecar hasta 1 L por hora, lo que lleva a un shock hipotensor y la muerte en cuestión de horas. Los pacientes muestran pulso elevado, piel seca, ojos hundidos, letargo, bajo volumen de orina, náuseas y vómitos en la fase temprana de la infección y pueden presentar calambres abdominales. La fiebre es poco frecuente, pero la fiebre alta es indicativa de infección secundaria. La diarrea acuosa causa deshidratación severa, pérdida de electrolitos y iones que causan hipertensión que puede ser mortal. La tasa de mortalidad entre los pacientes no tratados es de aproximadamente el 70%. Los bebés y los niños son altamente

susceptibles. Los pacientes en recuperación desarrollan inmunidad contra el cólera²¹⁵.

Diagnóstico de laboratorio

Las temperaturas del agua a ambos lados del rango afectan severamente el crecimiento bacteriano. La deficiencia de nutrientes, la salinidad y los cambios de temperatura promueven el estrés, lo que resulta en un estado viable pero no cultivable (VBNC), especialmente para *V. cholerae* y *V. vulnificus*. Sin embargo, la identificación se lleva a cabo adicionalmente por serotipos para el antígeno somático O y los antígenos capsulares K. Se han utilizado ensayos inmunológicos que incluyen ELISA que se dirigen a antígenos intracelulares y TDH. Se han desarrollado ensayos de PCR de gen único o específico de múltiples genes dirigidos a los genes 16S rRNA para la detección de *Vibrio* spp. Se ha informado un límite de detección de $10^1 - 10^2$ ufc cuando se usa en un formato multiplex dirigido a dos o tres genes. Para la tipificación e identificación genómica, se han utilizado ribotipados, polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (RFLP), polimorfismo de longitud de fragmento de restricción amplificado (AFLP), ADN polimórfico amplificado aleatoriamente y secuencia de consenso intergénica enterobacteriana-PCR (ERIC-PCR)²¹⁶.

Tratamiento

La forma distintiva del cólera es la diarrea profusa. La pérdida de agua y electrolitos conduce a la deshidratación; por lo tanto, la fluidoterapia es el tratamiento más efectivo para prevenir la deshidratación. Además de la rehidratación oral, se recomienda la terapia con fluidos intravenosos en pacientes que muestran signos avanzados de deshidratación, incluidos ojos hundidos, pulso alto, letargo, bajo volumen de orina y estado comatoso. Los antibióticos que incluyen tetraciclina, cotrimoxazol, eritromicina, doxiciclina, cloranfenicol y furazolidona pueden usarse para tratar la enfermedad, pero la preocupación por la resistencia a los antibióticos es muy alta. La vacuna contra el cólera se usa para prevenir la infección en la población de zonas endémicas. La vacunación oral con bacterias muertas junto con una subunidad B purificada de toxina del cólera es ampliamente utilizada y es

recomendada por la OMS. Ahora se utilizan dos vacunas para administración oral: la primera: Dukoral (Suecia) que contiene varios biotipos y serotipos de *V. cholerae* O1, suplementado con 1 mg por dosis de la subunidad recombinante de la toxina del cólera B y la segunda: Shanchol (India), una toxina bivalente que contiene varios biotipos y serotipos O1 y O139 sin la subunidad suplementaria de la toxina del cólera B. Estas vacunas se administran 2 o 3 veces según la edad del paciente. La protección general es del 60 al 85% y dura de 2 a 3 años²¹⁷.

Finalmente, la solución a largo plazo para la lucha contra el cólera (y que beneficia también a todas las enfermedades que se propagan por vía fecal – oral) se basa en el desarrollo económico, el acceso universal al agua potable y a un saneamiento adecuado, fundamentales en la prevención del cólera, tanto epidémico como endémico²¹⁸.

4. Riesgos y perspectivas a futuro

El riesgo biológico va de la mano con una alta probabilidad de escenarios posibles, que se pueden clasificar en tres categorías: natural, no intencionado y deliberado. La prevención y el manejo de tales eventos requieren medidas específicas a nivel nacional e internacional, en términos de bioseguridad, una intervención optimizada puede minimizar la probabilidad de ocurrencia, pero también efectos adversos a corto plazo (es decir, número de víctimas, reacción de la población, entre otros) y consecuencias a largo plazo (es decir: enfermedades crónicas, cambios ecológicos, caída del comercio, entre otros). Los escenarios naturales incluyen enfermedades infecciosas comunes, emergentes / reemergentes y crónicas las cuales son causadas por agentes biológicos, que normalmente pueden estar presentes en las comunidades, como patologías agudas o crónicas, o aparecer repentinamente, causando síndromes nuevos o poco comunes. En particular, muchos factores ambientales y humanos pueden influir en las enfermedades emergentes y reemergentes, por ejemplo²¹⁹:

- Alta movilidad de la población: la gran cantidad de vuelos diarios, la disponibilidad de automóviles y carreteras, la presencia de ferrocarriles eficientes y el uso de embarcaciones turísticas permiten a las personas moverse rápidamente dentro de sus países y a través de ellos. Una movilidad tan alta ayuda a los agentes biológicos, ya que viajan con personas como anfitriones ocultos.
- Urbanización: debido a la urbanización, la deforestación causa la pérdida del hábitat natural para muchos animales, que podrían ser reservorios de agentes biológicos: dado que las ciudades tienen lugar en los bosques, la probabilidad de contacto entre los humanos y estos animales aumenta, lo que aumenta el riesgo de transmisión de microorganismos.
- Cambio climático: muchas áreas del mundo están experimentando un cambio en las temperaturas y los climas, en particular cada vez más calurosos y con mayor proporción de lluvia. Tales eventos favorecen la expansión de vectores, como mosquitos y garrapatas, en lugares donde han

sido eliminados o nunca han estado presentes: la consecuencia es una mayor probabilidad de infección en poblaciones que estuvieron expuestas a dicho riesgo solo en el pasado o que nunca ha sido expuestas / afectadas.

- Invasión de hábitats: la alta densidad de población significa más contactos, lo que a su vez conlleva un mayor riesgo de transmisión.

Los eventos involuntarios generalmente se deben a actividades de investigación y diagnóstico: los laboratorios son los lugares donde se manejan los agentes biológicos y la falta de medidas de seguridad de la biotecnología o negligencia pueden provocar una liberación accidental; Las llamadas infecciones adquiridas en laboratorio representan la consecuencia principal, ya que causan patologías en los trabajadores de laboratorio, pero también pueden transmitirse en la población. Por otro lado, el uso deliberado de agentes biológicos está estrictamente relacionado con actividades terroristas: los microorganismos son muy adecuados para este propósito, ya que están ocultos y pueden propagarse fácilmente. Teniendo en cuenta estos sucesos, cabe agregar la importancia de tomar medidas preventivas estratégicas para solucionar, minimizar o prevenir el uso de agentes como armas biológicas en todos los sectores²²⁰.

Debido a que existe cierta *accesibilidad a las fuentes de agente / patógeno*, probablemente de muchas maneras, especialmente para agentes de las categorías B, C y agentes emergentes durante los brotes. Las autoridades sanitarias son obligatorias para la identificación, vigilancia y notificación de: pacientes, casos sospechosos o transportistas con algunos agentes de cualquiera de las categorías A, B, C o agentes emergentes. Los sistemas de vigilancia de bioterrorismo requieren de 3 aspectos importantes: puntualidad, alta sensibilidad y especificidad, y análisis de datos de rutina. Para la detección temprana de brotes deliberados, la sensibilidad de los sistemas debe ser lo más alta posible. Dicho sistema debería ser económico, simple de llevar a cabo, libre de barreras tecnológicas y con un componente importante de la biovigilancia global. Debe usarse junto con métodos que identifiquen rápidamente el tratamiento e instituyan medidas de protección de la salud pública (inmunización, quimioprofilaxis y aislamiento). Estas últimas

estrategias de contención efectiva han sido y serán parte de la detección temprana que podría salvar muchas vidas. Finalmente es útil capacitar a los científicos de todas las edades para que estén al tanto de las técnicas moleculares para modificar organismos peligrosos existentes y controlar un agente infeccioso con propiedades de un agente selecto. Esta capacitación también debe incluir educación en la ética de la ciencia, preparando a los jóvenes científicos para compartir responsabilidades para trabajar solo por el bien de la humanidad²²¹.

5. Conclusión

A lo largo de este trabajo se abordó el gran impacto que tienen las bacterias al ser usadas como armas biológicas. Éstas a su vez tienen un alcance mayor que las armas químicas, ya que hay algunos microorganismos que se encuentran más infecciosos y potentes que otros y podrían provocar los mismos resultados que las armas químicas en cuanto a mortalidad y morbilidad, pero con bajas dosis.

Todas las bacterias abordadas merecen la debida atención, ya que son microorganismos muy pequeños pero capaces de causar grandes enfermedades si se encuentran en determinadas concentraciones, además es importante notar el hecho de que cada una presenta un mecanismo de patogenicidad único al mostrar un conjunto bien equipado de sistemas y modos de ataque. Algunas comparten ciertas similitudes como en el caso de las enterobacterias y sus sistemas de secreción, es necesario comprender y estudiar su origen, modo de transmisión, cómo actúa cada una durante el proceso de infección para poder abordar las enfermedades provocadas y con más razón detectar si parten del uso como agentes biológicos.

Otra razón de peso para el estudio de las bacterias como armas biológicas es que, de las 15 bacterias abordadas, la mayoría son actores importantes en la cuestión de inocuidad y seguridad alimentaria. Cuando consumimos los alimentos no podemos percibir si estamos degustando una *Salmonella* o la toxina de *Clostridium Botulinum*, a menos que desarrollemos síntomas posteriores al consumo, pero lo que si podemos hacer es fomentar y apoyarnos de las buenas prácticas de higiene y manufactura en toda la cadena de los alimentos, no solo como individuos sino como sociedad.

Por otra parte, algunos factores como la demografía, nuevos asentamientos urbanos y rurales, el manejo de la tierra y otros ecosistemas, el desarrollo económico, los acontecimientos naturales y artificiales que afectan el equilibrio de los sistemas y sus microorganismos y las escasas o ausentes medidas de salud pública en algunas partes del mundo son los causantes de esta interacción con las

bacterias y otros microorganismos patógenos y no patógenos. Cabe destacar que a pesar del desarrollo industrial y los avances tecnológicos en este Siglo XIX, sigue siendo preocupante la resistencia de los microorganismos a los antibióticos en el área de la salud y la medicina.

Hoy en día un gran número de países vigila el fenómeno de resistencia a los antibióticos y proporciona información conexa, lo que constituye un avance fundamental en la lucha contra la resistencia a los antimicrobianos en todo el mundo. No obstante, la información que han facilitado apunta a que en un número preocupante de bacterias patógenas cada vez se observa más resistencia a los fármacos que se utilizan para eliminarlas. Las elevadas tasas de resistencia a los antimicrobianos que habitualmente se utilizan para tratar infecciones frecuentes, tales como las infecciones urinarias y algunos tipos de diarrea, ponen de relieve que el mundo está quedándose sin mecanismos eficaces para lidiar con esas enfermedades²²².

Finalmente, como científicos es fundamental respetar los códigos de conducta y hacer uso de la ética no solo en el trabajo de laboratorio, sino también en pro de la construcción de la responsabilidad que tenemos con nosotros mismos y con la sociedad al abordar cuestiones como la bioseguridad, la sensibilidad manejada en la investigación, la educación y formación de personas científicas, teniendo siempre en cuenta el buen uso del conocimiento y la información.

6. Referencias Bibliográficas

¹ Madigan MT, Martinko JM y Dunlap PV. Brock Biología de los microorganismos. 12^a ed. Madrid: Pearson Educación; 2009.

² Benitez M, Artiles E, Victores J, Reyes A, Gómez R y Calderón N. La guerra biológica: un desafío para la humanidad. Rev Arch Med Camagüey [En línea]. 2018. [Consultado: 18 de enero de 2020] 22 (5): [803-828 pp.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/amc/v22n5/1025-0255-amc-22-05-803.pdf>

³ *Vid supra.*

⁴ *Vid supra.*

⁵ *Vid supra.*

⁶ Quindós G. Sobre las armas biológicas [En línea]. España: Guillermo Quindós Andrés. Junio 2011 [Consultado: 20 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.ehu.es/ehusfera/mikrobios/2011/06/03/sobre-las-armas-biologicas-palabras-introductorias-2/>

⁷ *Vid supra.*

⁸ Murray PR, Rosenthal KS y Pfaller MA. Microbiología médica. 6ta ed. Barcelona: Elsevier; 2012.

⁹ *Ibidem.*

¹⁰ *Ibidem.*

¹¹ Medina J. Novichok, familia de agentes nerviosos [Tesis para obtener el título de Ingeniero Químico]. CDMX: Universidad Nacional Autónoma de México; 2019.

¹² UNODA. [En línea] Nueva York: La Convención sobre las Armas Biológicas [Consultado: 19 enero de 2020]. Disponible en: <http://disarmament.un.org/treaties/t/bwc/text>

¹³ UNOG. [En línea]. Ginebra: ¿Qué son las armas biológicas y tóxicas? [Consultado: 19 enero de 2020]. Disponible en: [https://www.unog.ch/80256EE600585943/\(httpPages\)/29B727532FECBE96C12571860035A6DB?OpenDocument](https://www.unog.ch/80256EE600585943/(httpPages)/29B727532FECBE96C12571860035A6DB?OpenDocument)

¹⁴ Saad B M. El bioterrorismo, ¿Es un peligro inminente? IETSCIENTIA [En línea]. 2017. [Consultado: 20 de enero de 2020] 3(2): [160-189 pp.]. Disponible en: http://institucional.us.es/revistas/lus_Et_Scientia/VOL_3_N%C2%BA_2/2017h.pdf

¹⁵ Machín N. Las armas biológicas. Perspectivas de futuro. Revista UNISCI [En línea]. Mayo 2014 [Consultado: 6 de febrero de 2020]; (35): [205-222 pp.]. Disponible en: <https://doaj.org/article/620010c592ec4476bf165ba6aff724fe>

¹⁶ Erenler AK, Güzel M y Baydin A. Que tan preparados estamos para posibles ataques bioterroristas: un enfoque desde la perspectiva de la medicina de emergencia. *The Scientific World Journal*. [En línea] Julio 2018. [Consultado: 6 de febrero de 2020]; (2018): [1-4 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2018/7849863>

¹⁷ *Vid supra*.

¹⁸ *Vid supra*.

¹⁹ Riedel S. Guerra biológica y bioterrorismo: una revisión histórica. *Procedimientos del Centro Médico de la Universidad de Baylor* [En línea] Octubre 2004. [Consultado: 8 de febrero de 2020]; 17(4): [400-206 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/08998280.2004.11928002>

²⁰ *Vid supra*.

²¹ ANFRIX [En línea] De la cartilla arma biológica en la Historia a las arañas del rey Pirro; 2007 [Consultado: 12 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.anfrix.com/2007/05/las-aranas-del-rey-pirro-el-primer-bio-ataque-de-la-historia/>

²² ANFRIX [En línea] Las máscaras antiplaga de los médicos renacentistas de la plaga; 2006 [Consultado: 12 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.anfrix.com/2006/12/las-mascaras-de-gas-medievales/>

²³ *Vid supra*

²⁴ *Vid supra*.

²⁵ Dembek ZF. Defensa de armas biológicas: enfermedades infecciosas y contra bioterrorismo [En línea]. New Jersey: Humana Press; 2005. [Consultado: 12 de febrero de 2020]. Capítulo 2. Modelado para incidentes de bioterrorismo. Disponible en: <https://doi.org/10.1385/1-59259-764-5:023>

²⁶ *Vid supra*.

²⁷ *Vid supra*.

²⁸ *Vid supra*.

²⁹ *Vid supra*.

³⁰ *Vid supra*.

³¹ *Vid supra*.

³² *Vid supra*.

³³ *Vid supra*.

³⁴ Radosavljevic V, Banjari I y Belojevic G. Defensa contra el terrorismo: métodos de prevención y control [En línea]. Países bajos: Springer; 2018. [Consultado: 20 de febrero de 2020]. (Serie OTAN de Ciencia para la paz y la seguridad, Serie A, Química y Biología). Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-94-024-1263-5>

³⁵ *Ibidem.*

³⁶ *Ibidem.*

³⁷ *Vid supra.*

³⁸ LeClaire D. R y M Pitt M. M. L. Defensa de armas biológicas: enfermedades infecciosas y contrabioterrorismo [En línea]. New Jersey: Humana Press; 2005. [Consultado: 15 de febrero de 2020]. Capítulo 3. Defensa de armas biológicas. Disponible en: <https://doi.org/10.1385/1-59259-764-5:041>

³⁹ *Ibidem.*

⁴⁰ *Vid supra.*

⁴¹ *Vid supra.*

⁴² *Vid supra.*

⁴³ *Vid supra.*

⁴⁴ *Vid supra.*

⁴⁵ *Vid supra.*

⁴⁶ Alibek K y Lobanova C. Microorganismos y Bioterrorismo Agentes Infecciosos y Patogénesis [En línea]. Estados Unidos: Springer; 2006. [Consultado: 20 de febrero de 2020]. Capítulo 4. Modulación de la inmunidad innata para proteger contra la amenaza de armas biológicas. Disponible en: https://doi.org/10.1007/0-387-28159-2_4

⁴⁷ Johnson-Winegar et al. Defensa de armas biológicas: enfermedades infecciosas y contrabioterrorismo [En línea]. New Jersey: Humana Press; 2005. [Consultado: 20 de febrero de 2020]. Capítulo 1. Capacidades del Departamento de Defensa que apoyan la respuesta al bioterrorismo. Disponible en: <https://doi.org/10.1385/1-59259-764-5:003>

⁴⁸ *Vid supra.*

⁴⁹ *Vid supra.*

⁵⁰ OMS [En línea]. Plan de acción mundial sobre vacunas 2011-2020. 2013 [Consultado: 28 de febrero de 2020]. Disponible en: http://www.who.int/immunization/global_vaccine_action_plan/DoV_GVAP_2012_2020/es/

⁵¹ *Vid supra.*

⁵² *Vid supra.*

⁵³ *Vid supra.*

⁵⁴ Arellano S, Soto D, Reeves Mab, Chávez F, Loubies R y Ojeda A. Ántrax cutáneo, último brote diagnosticado en Chile. Revista chilena infectología [En línea]. Abril 2017 [Consultado: 4 de marzo de 2020]; 35(2): [195-197 pp.]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182018000200195>

⁵⁵ *Vid supra.*

⁵⁶ *Vid supra.*

⁵⁷ OMS [En línea] Ántrax en humanos y animales. 2008, 4ta edición [Consultado: 4 de marzo de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/csr/resources/publications/AnthraxGuidelines2008/en/>

⁵⁸ *Vid supra.*

⁵⁹ *Vid supra.*

⁶⁰ *Vid supra.*

⁶¹ *Vid supra.*

⁶² *Vid supra.*

⁶³ *Vid supra.*

⁶⁴ Huang Y, Du Y, Wang Y, Wang N, Bai J, Chen H et al. Un brote de ántrax cutáneo en Yunnan, China. Microbios e infecciones emergentes [En línea]. Enero 2016 [Consultado: 6 de marzo de 2020]; 5 (1): [1-2 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/emi.2016.65>

⁶⁵ *Vid supra.*

⁶⁶ *Vid supra.*

⁶⁷ Bhunia AK. Patógenos microbianos transmitidos por los alimentos: mecanismos y patogénesis [En línea]. New York: Springer; 2018. [Consultado: 20 de marzo de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7349-1>

⁶⁸ *Ibidem.*

⁶⁹ *Ibidem.*

⁷⁰ *Vid supra.*

⁷¹ OMS [En línea] Botulismo [Actualizado: 10 de enero de 2018; consultado: 20 de marzo de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/botulism>

⁷² *Vid supra.*

⁷³ Arnon SS, Schechter R, Inglesby TV, Henderson DA, Barlett JG, Ascher MS, et al. La toxina botulínica como arma biológica: gestión médica y de salud pública. JAMA [En línea]. Febrero 2001 [Consultado: 21 de marzo de 2020]; 285 (8): [1059–1070 pp.]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/236309435_Botulinum_Toxin_as_a_Biological_Weapon_Medical_and_Public_Health_Management

⁷⁴ *Vid supra.*

⁷⁵ *Vid supra.*

⁷⁶ *Vid supra.*

⁷⁷ *Vid supra.*

⁷⁸ Yang R y Anisimov A. *Yersinia pestis*: retrospectiva y perspectiva [En línea]. Dordrecht: Springer; 2016. [Consultado: 7 de abril de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-94-024-0890-4>

⁷⁹ *Ibidem.*

⁸⁰ *Ibidem*

⁸¹ OMS. [En línea] Peste [Actualizado: 31 de octubre de 2017; consultado 25 de marzo de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/plague>

⁸² *Ibidem.*

⁸³ *Vid supra.*

⁸⁴ *Vid supra.*

⁸⁵ *Vid supra.*

⁸⁶ *Vid supra.*

⁸⁷ *Vid supra.*

⁸⁸ *Vid supra.*

⁸⁹ Azaki M, Uda A, Tian D, Nakazato K, Hotta A, Kawai Y, et al. Métodos efectivos para la inactivación de *Francisella tularensis*. PLoS ONE [En línea]. Noviembre 2019 [Consultado: 21 de abril de 2020]; 14 (11): [1 -17 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225177>

⁹⁰ Murch AL, Skipp PJ, Roach PL y Oyston PCF. La transcriptómica del genoma completo revela efectos globales que incluyen la regulación por aumento de la expresión del gen de la isla de patogenicidad de *Francisella* durante la respuesta estricta activa en la subespecie de *Francisella tularensis* altamente virulenta: *tularensis* SCHU S4. Microbiología [En línea]. Noviembre 2017 [Consultado: 1 de mayo de 2020]; 163 (11): [1664-1679 pp.]. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.000550>

⁹¹ *Ibidem.*

⁹² *Vid supra.*

⁹³ Buse HY, Morris BJ y Rice EW. Detección temprana de *Francisella tularensis* viable en matrices ambientales mediante PCR basada en cultivo. BMC Microbiol. [En línea]. Marzo 2020 [Consultado: 21 de abril de 2020]; 20 (1) [1 - 15 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/S12866-020-01748-0>

⁹⁴ Telford SR y Goethert HK. Ecología de *Francisella tularensis*. Annu Rev Entomol [En línea]. Enero 2020 [Consultado: 21 de abril del 2020]; 65 (1): [351-372 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025134>

⁹⁵ *Vid supra*.

⁹⁶ S. de Salud.gob.mx [En línea] ¿Qué es la tularemia? [Actualizado: 27 de octubre de 2015; consultado 21 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/articulos/que-es-la-tularemia>

⁹⁷ Barel M y Charbit A. Defensa contra ataques biológicos [En línea]. Suiza: Springer; 2019. [Consultado: 21 de abril de 2020]. Capítulo 10. *Francisella tularensis*: agente causante de tularemia y agente de biotratamiento. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-03071-1_10

⁹⁸ *Vid supra*.

⁹⁹ *Vid supra*.

¹⁰⁰ *Vid supra*.

¹⁰¹ *Vid supra*.

¹⁰² Kijek TM, Mou S, Bachert BA, Kuehl KA, Williams JA, Daye SP, et al. La enzima D-alanil-d-alanina carbopeptidasa es esencial para la virulencia en la cepa Schu S4 de *Francisella tularensis* y un mutante dacD puede proporcionar protección contra un desafío de neumonía. Patogenia microbiana. [En línea]. Septiembre 2019 [Consultado: 23 de abril de 2020]; 137: 103742. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103742>

¹⁰³ *Vid supra*.

¹⁰⁴ *Vid supra*.

¹⁰⁵ *Vid supra*.

¹⁰⁶ *Vid supra*.

¹⁰⁷ Fero E, Juma A, Koni A, Boci J, Kirandjiski T, Connor R, et al. La seroprevalencia de la brucelosis y la caracterización molecular de las especies de *Brucella* que circulan en los rebaños de ganado de carne en Albania. Clegg SR, editor. PLoS ONE. [En línea]. Marzo 2020 [Consultado: 30 de abril de 2020]; 15 (3): e0229741. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0229741>

¹⁰⁸ Figueiredo de P, Ficht TA, Rice-Ficht A, Rosetti CA, Adams LG. Patogenia e inmunobiología de la brucelosis: revisión de las interacciones Brucella-huésped. American Journal of Pathology. [En línea]. Junio 2015 [Consultado: 26 de abril 2020]; 185 (6): [1505-1517 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/J.AJPATH.2015.03.003>

¹⁰⁹ *Ibidem.*

¹¹⁰ *ibidem.*

¹¹¹ *Vid supra.*

¹¹² Noureen I, Hamza M, Sabir Khan H, Khan S y Hanif M. Brucelosis como causa de perforación intestinal. *Cureus* [En línea]. Febrero 2020 [Consultado: 27 de abril de 2020]; 12 (2): e7075 Disponible en: [10.7759 / cureus.7075](https://doi.org/10.7759/cureus.7075)

¹¹³ *Vid supra.*

¹¹⁴ Márquez S, Díaz DR, Sánchez L, Menéndez HA y Verga B. Riesgo de *Brucella* en humanos. Diseño de un sistema de vigilancia. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*. [En línea]. Marzo - Abril 2012 [Consultado: 27 de abril de 2020]; 16 (2): [107-123 pp.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942012000200009&lng=en&tlng=en#?

¹¹⁵ Dean AS, Crump L, Greter H, Hattendorf J, Schelling E y Zinsstag J. Manifestaciones clínicas de la brucelosis humana: una revisión sistemática y un metanálisis. Carabin H, editor. *PLoS Neglected Tropical Diseases* [En línea]. Diciembre 2012 [Consultado: 30 de abril de 2020]; 6 (12): e1929. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001929>

¹¹⁶ *Ibidem.*

¹¹⁷ *Vid supra.*

¹¹⁸ *Vid supra.*

¹¹⁹ Che L, Qi C, Bao W, Ji X, Liu J, Du N, et al. Monitoreo del curso de la infección por *Brucella* con detección basada en qPCR. *Revista Internacional de Enfermedades Infecciosas*. [En línea]. Septiembre 2019 [Consultado: 4 de mayo de 2020]; 89: [66-71 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/J.IJID.2019.09.013>

¹²⁰ Kallleshmurthy T, Shekar R, Niranjanamurthy HH, Natesan K, Shome BR, Bambal RG, et al. Evaluación del ensayo de polarización de fluorescencia: una herramienta de diagnóstico sincera en las áreas vacunadas de la cepa *Brucella abortus* 19. *Microbiol Immunol*. [En línea]. Noviembre 2018 [Consultado: 4 de mayo de 2020]; 62 (11): [694-701 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12654>

¹²¹ *Vid supra.*

¹²² *Vid supra.*

¹²³ Khan S, Akhtar MU, Khan S, Javed F y Khan AA. Levoflaxicina encapsulada en nanoniosomas como agente antibacteriano contra *Brucella*. *J Basic Microbiol*. [En línea]. Diciembre 2019 [Consultado: 4 de mayo de 2020]; 60 (3): [281-290 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jobm.201900454>

¹²⁴ *Vid supra.*

¹²⁵ Revitt-Mills SA, Rood JI y Adams V. *Clostridium perfringens* toxinas extracelulares y enzimas: 20 y contando. *Microbiol Aust* [En línea]. Septiembre 2015. [Consultado: 7 de mayo de 2020]; 36 (3): [114-117 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1071/MA15039>

¹²⁶ *Ibidem.*

¹²⁷ Rood JI, Adams V, Lacey J, Lyras D, McClane BA, Melville SB, et al. Expansión del esquema de tipificación basado en toxinas de *Clostridium perfringens*. *Anaerobio* [En línea]. Octubre 2018 [Consultado: 7 de mayo de 2020]; 53: [5-10 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.04.011>

¹²⁸ *Vid supra.*

¹²⁹ Savva CG, Clark AR, Naylor CE, Popoff MR, Moss DS, Basak AK, et al. La estructura de los poros de la toxina épsilon de *Clostridium perfringens*. *Nature Communications* [En línea]. Junio 2019 [Consultado: 17 de mayo de 2020]; 10 (1): 2641. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10645-8>

¹³⁰ Popoff MR. La toxina épsilon: una toxina fascinante formadora de poros. *FEBS Journal* [En línea]. Abril 2011 [Consultado: 17 de mayo de 2020]; 278 (23): [4602-4615 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08145.x>

¹³¹ Uzal FA, Freedman JC, Shrestha A, Theoret JR, Garcia J, Awad MM, et al. Hacia una comprensión del papel de las toxinas de *Clostridium perfringens* en la enfermedad humana y animal. *Microbiología Futura* [En línea]. 2014 marzo [Consultado: 17 de mayo de 2020]; 9 (3): [361-377 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.2217/fmb.13.168>

¹³² Mellou K, Kyritsi M, Chrysostomou A, Sideroglou T, Georgakopoulou T, Hadjichristodoulou C. *Clostridium perfringens* brote transmitido por alimentos durante un evento deportivo en el norte de Grecia. *IJERPH* [En línea]. Octubre 2019 [Consultado: 17 de mayo de 2020]; 16 (20): 3967. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijerph16203967>

¹³³ *Vid supra.*

¹³⁴ *Vid supra.*

¹³⁵ Dolan GP, Foster K, Lawler J, Amar C, Swift C, Aird H, et al. Una revisión epidemiológica de los brotes gastrointestinales asociados con *Clostridium perfringens*, noreste de Inglaterra, 2012-2014. *Epidemiol Infect.* [En línea]. Mayo 2016 [Consultado: 18 de mayo de 2020]; 144 (7): [1386-1393 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0950268815002824>

¹³⁶ *Vid supra.*

¹³⁷ *Vid supra.*

¹³⁸ *Vid supra.*

¹³⁹ *Vid supra.*

¹⁴⁰ Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Dellinger EP, Goldstein EJC, Gorbach SL, et al. Pautas prácticas para el diagnóstico y manejo de infecciones de piel y tejidos blandos: actualización de 2014 por la Sociedad de Enfermedades infecciosas de América. *Enfermedades infecciosas clínicas*. [En línea]. Julio 2014 [Consultado: 20 de mayo de 2020]; 59 (2): [147-159 pp.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24947530>

¹⁴¹ *Vid supra.*

¹⁴² *Vid supra.*

¹⁴³ *Vid supra.*

¹⁴⁴ *Vid supra.*

¹⁴⁵ *Vid supra.*

¹⁴⁶ *Vid supra.*

¹⁴⁷ *Vid supra.*

¹⁴⁸ *Vid supra.*

¹⁴⁹ *Vid supra.*

¹⁵⁰ *Vid supra.*

¹⁵¹ *Vid supra.*

¹⁵² *Vid supra.*

¹⁵³ *Vid supra.*

¹⁵⁴ *Vid supra.*

¹⁵⁵ FDA.gov. Métodos de laboratorio: método BAM archivado: métodos rápidos para detectar patógenos transmitidos por los alimentos [En línea]. Enero 2001, [Actualizado: 6 abril de 2017; consultado: 20 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://wayback.archive-it.org/7993/20170406182241/https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109652.htm>

¹⁵⁶ Harkins VJ, McAllister DA, Reynolds BC. Shiga-toxina. Síndrome urémico hemolítico de *E. Coli*: revisión del tratamiento y resultados a largo plazo. *Curr Pediatr Rep*. [En línea]. Enero 2020 [Consultado: 29 de mayo de 2020]; 8 (1): [16-25 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s40124-020-00208-7>

¹⁵⁷ Li Y, Liu H, Huang H, Deng J, Fang L, Luo J, et al. Una estrategia electroquímica sensible a través de múltiples reacciones de amplificación para la detección de *E. coli* O157:H7. *Biosensores y Bioelectrónica* [En línea]. Enero 2020 [Consultado: 29 de mayo de 2020]; 147: 111752. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111752>

¹⁵⁸ *Vid supra.*

¹⁵⁹ OMS [En línea]. *E. coli* [Actualizado: 7 de febrero de 2018; consultado: 30 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

¹⁶⁰ *Vid supra.*

¹⁶¹ *Vid supra.*

¹⁶² *Vid supra.*

¹⁶³ *Vid supra.*

¹⁶⁴ *Vid supra.*

¹⁶⁵ *Vid supra.*

¹⁶⁶ *Vid supra.*

¹⁶⁷ *Vid supra.*

¹⁶⁸ Sarkar-Tyson M y Titball RW. Vacunas para biodefensa y enfermedades emergentes y desatendidas. [En línea]. Países Bajos. Elsevier. 2009. [Consultado: 6 de junio de 2020]. Capítulo 43. *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-369408-9.00043-3>

¹⁶⁹ Memišević V, Zavaljevski N, Pieper R, Rajagopala SV, Kwon K, Townsend K, et al. Nuevos factores de virulencia de *Burkholderia mallei* vinculados a interacciones específicas de la proteína huésped-patógeno. *Proteómica de células mol.* [En línea]. Noviembre 2013 [Consultado: 6 de junio de 2020]; 12 (11): [3036-3051 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.029041>

¹⁷⁰ *Ibidem.*

¹⁷¹ Khakhum N, Tapia D y Torres A. Defensa contra ataques biológicos [En línea]. Suiza: Springer; 2019. [Consultado: 6 de junio de 2020]. Capítulo 7. *Burkholderia mallei* and Glanders. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-03071-1_7

¹⁷² Lin CN. Toxinología: toxinas biológicas y bioterrorismo. [En línea]. Nueva York: Springer; 2014. [Consultado: 6 de junio de 2020]. Capítulo 10. Impactos en la salud humana causados por zoonosis. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-5869-8>

¹⁷³ *Vid supra.*

¹⁷⁴ Cárdenas NC, Galvis JOA, Farinati AA, Grisi – Filho JHH, Diehl GN, Machado G. *Burkholderia mallei*: la dinámica de las redes y la transmisión de enfermedades. *Transbound Emerg Dis* [En línea]. Noviembre 2018 [Consultado: 6 de junio de 2020]; 66 (2): [715-728 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/tbed.13071>

¹⁷⁵ *Vid supra.*

176 *Vid supra.*

177 *Vid supra.*

178 Pflughoeft KJ, Hau D, Thorkildson P y AuCoin DP. Defensa contra ataques biológicos [En línea]. Suiza: Springer; 2019. [Consultado: 8 de junio de 2020]. Capítulo 8. *Burkholderia pseudomallei*. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-03071-1_8

179 *Ibidem.*

180 Titball RW, Burtnick MN, Bancroft GJ y Brett P. Vacunas *Burkholderia pseudomallei* y *Burkholderia mallei*: ¿Estamos cerca de los ensayos clínicos? Vacuna. [En línea]. Octubre 2017, [Consultado: 8 de junio de 2020]; 35 (44): [5981-5989 pp.]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.03.022>

181 *Vid supra.*

182 *Vid supra.*

183 *Vid supra.*

184 *Vid supra.*

185 CFSPH. [En línea]. Psitacosis/Clamidiosis aviar. [Actualizado: junio 2009; consultado: 14 de junio de 2020]. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/psittacosis-es.pdf>

186 *Vid supra.*

187 Origlia JA, Cadario ME, Frutos MC, Lopez NF Corva S, Unzaga MF, et al. Detección y caracterización molecular de *Chlamydia psittacci* y *Chlamydia abortus* en aves mascotas psitácidas en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Revista Argentina de Microbiología [En línea]. Abril - Junio 2019, [Consultado: 10 de junio de 2020]; 51 (2): [130-135 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.04.003>

188 *Vid supra.*

189 Wen Y, Chen Y, Li L, Xu M, Tan Y, Li Y, et al. Localización y caracterización de una supuesta cisteína desulfurasa en *Chlamydia psittacci*. Revista de Bioquímica Celular. [En línea]. 2019 [Consultado: 14 de junio 2020]; 120 (3): [4409-4422 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/JCB.27727>

190 *Ibidem.*

191 *Vid supra.*

192 *Vid supra.*

193 Jiménez-Cordero J y Jiménez-Pernudo O. Cefalea, fiebre y mialgias: neumonía atípica por *Chlamydia psittacci*. SEMERGEN [En línea]. Julio - Agosto 2016, [Consultado: 14 de

junio de 2020]; 42 (5): [338 - 340 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/J.SEMERG.2015.05.014>

¹⁹⁴ *Ibidem.*

¹⁹⁵ Jazi S, Mokhtari A, Ebrahimi Kahrizsangi A. Detección molecular de *Chlamydia psittaci* y *Chlamydia felis* en casos de queratoconjuntivitis humana. BJVM [En línea]. 2020 [Consultado: 14 de junio de 2020]; 23 (1): [130 - 137 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.15547/bjvm.2124>

¹⁹⁶ *Vid supra.*

¹⁹⁷ *Vid supra.*

¹⁹⁸ Newton P, Kuba M, Padmanabhan B, Letomanski EA y Newton HJ. Defensa contra ataques biológicos [En línea]. Suiza: Springer; 2019. [Consultado: 21 de abril de 2020]. Capítulo 9. *Coxiella burnetii*: escondiéndose a simple vista. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-03071-1_9

¹⁹⁹ Dragan AL y Voth DE. *Coxiella burnetii*: patógeno internacional del misterio. Microbios e infecciones [En línea]. Abril 2020 [Consultado: 15 de abril de 2020]; 22 (3): [100–110 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/J.MICINF.2019.09.001>

²⁰⁰ *Ibidem.*

²⁰¹ *Ibidem.*

²⁰² Long CM, Beare PA, Cockrell DC, Larson CL y Heinzen RA. Virulencia comparativa de diversas cepas de *Coxiella burnetii*. Virulencia [En línea]. Febrero 2019 [Consultado: 15 de junio de 2020]; 10 (1): [133–150 pp.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/21505594.2019.1575715>

²⁰³ Toman R, Heinzen R A, Samuel J E y Mege J-L editores. *Coxiella burnetii*: avances recientes y nuevas perspectivas en la investigación de la bacteria de la fiebre Q. [En línea]. Dordrecht: Springer; 2012. [Consultado: 7 de julio de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-4315-1>

²⁰⁴ *Vid supra.*

²⁰⁵ *Vid supra.*

²⁰⁶ *Vid supra.*

²⁰⁷ *Vid supra.*

²⁰⁸ Wang JC, Tung YC, Ichiki K, Sakamoto H, Yang TH, Suye S, et al. Detección sin cultivo de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina mediante el uso de nanosensores de AND difusométricos autodirigidos. Biosensores y Bioelectrónica. [En línea]. Enero 2020

[Consultado: 29 de mayo de 2020]; 148: 111817. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2019.111817>

²⁰⁹ *Vid supra.*

²¹⁰ *Vid supra.*

²¹¹ *Vid supra.*

²¹² *Vid supra.*

²¹³ *Vid supra.*

²¹⁴ *Vid supra.*

²¹⁵ *Vid supra.*

²¹⁶ *Vid supra.*

²¹⁷ *Vid supra.*

²¹⁸ OMS. [En línea] Cólera. [Actualizado: 17 de enero de 2019; consultado: 1 de julio de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cholera>.

²¹⁹ *Vid supra.*

²²⁰ *Vid supra.*

²²¹ *Vid supra.*

²²² OMS [En línea] Un número sin precedentes de países informa tasas preocupantes de resistencia a los antimicrobianos. [Actualizado: 1 de junio de 2020; consultado: 10 de julio de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/01-06-2020-record-number-of-countries-contribute-data-revealing-disturbing-rates-of-antimicrobial-resistance>