

ISBN 9972-857-56-5



MINISTERIO DE SALUD DEL PERÚ
Instituto Nacional de Salud

ORGANISMO PÚBLICO DESCENTRALIZADO DEL MINISTERIO DE SALUD

“Investigar para proteger la salud”



EL ÁNTRAX:

UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA VIGENTE



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Calle Cápac Yupanqui 1400, Lima 11, Perú
Teléfono: (0511) 471-9920 - Fax: (0511) 471-0179
Correo electrónico: revmedex@ins.gob.pe
Página web: www.ins.gob.pe

EL ÁNTRAX: UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA VIGENTE



DOCUMENTO TÉCNICO N.º 6
ENFERMEDADES EMERGENTES Y REEMERGENTES



Ministerio de Salud

**MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD**



**EL ÁNTRAX:
UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA
VIGENTE**

**Documento Técnico N° 6
Enfermedades emergentes y reemergentes**

Elaborado por:

Dr. César Cabezas Sánchez	CNSP
Dr. Víctor Suárez Moreno	CNSP
Dr. Javier Vargas Herrera	CNSP
Dra. Silvia Herrera Bernuy	CNPB
Dra. Rosa Mostorino Elguera	CNSP
Blga. Sara Morales de Santa Gadea	CNSP
Dr. Alfredo Guillén Oneeglio	UNFV

Catalogación hecha por el Centro de Información y Documentación
del Instituto Nacional de Salud (INS)

El ántrax: un problema de salud pública vigente / Elaborado por Cabezas Sánchez, César; Vargas Herrera, Javier; Suárez Moreno, Víctor; Herrera Bernuy, Silvia; Mostorino Elguera, Rosa; Guillén Oneeglio, Alfredo; Morales de Santa Gadea, Sara— Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2006.

73 p. ; 14.7 x 20.8 cm. — (Documento Técnico. Enfermedades Emergentes y Reemergentes; 6)

1. ÁNTRAX / diagnóstico
2. ÁNTRAX / prevención y control
3. ÁNTRAX / etiología
4. ÁNTRAX / epidemiología
5. PERÚ

- I. César Cabezas Sánchez
- II. Javier Vargas Herrera
- III. Víctor Suárez Moreno
- IV. Silvia Herrera Bernuy
- V. Rosa Mostorino Elguera
- VI. Sara Morales de Santa Gadea
- VII. Alfredo Guillen Oneeglio
- VIII. Instituto Nacional de Salud (Perú)
- IX. Perú. Ministerio de Salud

ISBN 9972-857-56-5

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2006-2695

© Ministerio de Salud, 2006

Av. Salaverry, cuadra 8 s/n, Jesús María, Lima, Perú
Teléfono: (511) 431-0410

© Instituto Nacional de Salud, 2006

Cápac Yupanqui 1400, Jesús María, Lima, Perú
Teléfono: (511) 471-9920 Fax: (511) 471-0179
Correo electrónico: revmedex@ins.gob.pe
Página web: www.ins.gob.pe

Publicación aprobada con R.J. N° 178-2006-J-OPD/INS

Portada: Aspectos diversos del ántrax y la vacuna contra la fiebre carbonosa.

Se autoriza su reproducción total o parcial, siempre y cuando se cite la fuente.

SECTOR SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD



Nº. 178-2006-J-CPD/Ins

RESOLUCION JEFATURAL

Lima, 28 de Marzo del 2006

Visto el Informe N° 031-2006-DG-OGIS/INS del 24 de marzo de 2006, del Director General de la Oficina General de Información y Sistemas del Instituto Nacional de Salud;

CONSIDERANDO:

Que, el artículo 5° del D.S. N° 001-2003-SA, Reglamento de Organización y Funciones del Instituto Nacional de Salud señala que la institución tiene como misión promover, desarrollar y difundir la investigación científica y la transferencia de tecnología en el campo de la salud pública;

Que, el Comité Editor del Instituto Nacional de Salud en su Sesión 01-2006, de fecha 04 de enero de 2006, aprobó la publicación del documento de trabajo titulado: "El Ántrax: Un Problema de Salud Pública Vigente", por lo que se hace necesaria la autorización para su publicación;

Estando a lo propuesto por la Oficina General de Información y Sistemas;

Con la opinión favorable del Director General de Asesoría Jurídica; y

En uso de las atribuciones establecidas en el inciso h) del artículo 12° del Reglamento de Organización y Funciones del Instituto Nacional de Salud, aprobado por Decreto Supremo N° 001-2003-SA;

SE RESUELVE:

Artículo 1°.- AUTORIZAR, la siguiente publicación:

Título de la publicación	Elaborado por:
"El Ántrax: Un Problema de Salud Pública Vigente"	• Comité de Bioseguridad del INS



Continúa...



"Año de la Consolidación Democrática"

FE DE ERRATAS

RESOLUCION JEFATURAL N° 178-2006-J-OPD/INS

Parte resolutive

DICE:

Artículo 1°.- AUTORIZAR, la siguiente publicación:

Título de la Publicación	Elaborado por:
"El Antrax: Un Problema de Salud Pública Vigente"	• Comité de Bioseguridad del INS

DEBE DECIR:

Artículo 1°.- AUTORIZAR, la siguiente publicación:



Título de la Publicación	Elaborado por:
"El Antrax: Un Problema de Salud Pública Vigente"	<ul style="list-style-type: none">• Dr. César Cabezas Sánchez• Dr. Javier Vargas Herrera• Dr. Victor Suárez Moreno• Dra. Silvia Herrera Bernuy• Dra. Rosa Mostorino Elguera• Dr. Alfredo Guillén Oneeglio• Blga. Sara Morales de Santa Gadea



Artículo 2°.- DISTRIBUIR, copia de la presente Resolución a las instancias de la Institución que correspondan.

Regístrese y comuníquese,

Lima, 26 de abril de 2006




Dr. César G. Miquera Velarde
Jefe
Instituto Nacional de Salud



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CERTIFICO: Que la presente copia fotostática es exactamente igual
al documento que he tenido a la vista y que he devuelto en el acto al
interesado.
Registro N° 2658 Lima 30-03-06


Sra. Ines Jiménez Landaveri
FEDATARIO

CONTENIDO

Introducción	7
Historia	9
Epidemiología	11
Etiología	14
Fisiología y metabolismo	16
Etiopatogenia	18
Patología	21
Manifestaciones clínicas	23
Diagnóstico	28
Ántrax en el hombre	40
Carbunco o ántrax en animales	42
Situación zoonositaria del carbunco o ántrax en el Perú	45
Prevención y control	47
Vacuna	51
Producción de la vacuna carbonosa en el CNPB/INS	54
Bibliografía	56

INTRODUCCIÓN

El propósito principal de esta publicación es ser fuente de información sobre una de las zoonosis de mayor impacto en salud pública. De ahí la importancia de la participación de todas las personas vinculadas con los sectores de salud y agropecuario, para tomar acciones conjuntas con la finalidad de reforzar los programas de cooperación compatibles con los fines de nuestras instituciones.

El INS se constituye en el ente generador y actualizador de información en el diagnóstico situacional de las enfermedades existentes en el país, también se encarga de plantear esquemas y estrategias innovadoras que permitan identificar una posible enfermedad emergente a través del diagnóstico de poblaciones o factores de riesgo de presentación de enfermedades. Por estas razones, realiza en forma permanente acciones encaminadas a la modernización, actualización de sus estructuras, procedimientos y desarrollo tecnológico, como único mecanismo capaz de garantizar el progreso del país.

Desde los hechos acaecidos el 11 de setiembre de 2001, en los Estados Unidos de Norteamérica, el mundo ha sufrido grandes cambios en lo que respecta a la seguridad ciudadana. Se generó incertidumbre e incluso pánico, ante la amenaza del uso de microorganismos infecciosos como armas biológicas, que por sus características patogénicas significaría un gran problema de salud pública, ya que muchas de las enfermedades causadas por ellos tienen tasas de letalidad que pueden aproximarse al 100%. La globalización en la cual nos encontramos inmersos, obliga a considerar amplias medidas de prevención, enmarcadas en el vasto conocimiento del problema y el desarrollo de actividades coordinadas con todas las instituciones responsables de velar por el bienestar y seguridad de la población.

El Ministerio de Salud, a través del Instituto Nacional de Salud, presenta este documento técnico, con el objetivo de proporcionar información que permita el mejor conocimiento y aplicación de medidas de prevención, diagnóstico y control, sobre enfermedades emergentes y reemergentes, que incluso pudieran ser utilizadas como armas de terror, como es el caso del ántrax. Hacemos mención especial a la contribución especial del personal del Centro Nacional de Producción de Biológicos, en la persona de la Dra. Silvia Herrera, en la elaboración del presente documento técnico.

HISTORIA

Por siglos, el ántrax (o carbunco) ha causado enfermedad en los animales y ocasionalmente serios problemas en seres humanos en todo el mundo. El ántrax fue la primera enfermedad infecciosa en la que se demostró que una bacteria era el agente causal. Robert Koch, con el descubrimiento del *Bacillus anthracis* en el siglo XIX fundó la infectología.

El ántrax como arma biológica viene investigándose desde hace más de 80 años. Actualmente, al menos 17 países probablemente cuentan con programas para el desarrollo de armas biológicas ofensivas; es incierto cuántos están trabajando con ántrax. Irak reconoce que produce ántrax como arma biológica.

Muchos expertos señalan que la producción de ántrax letal bajo la forma de aerosol está más allá de la capacidad de individuos o grupos que no cuentan con acceso a biotecnología avanzada. Sin embargo, grupos autónomos con fondos substanciales y contactos pueden adquirir los materiales necesarios para un ataque exitoso. El grupo terrorista *Aum Shinrikyo*, responsable de la liberación de gas sarín en la estación del tren en Tokio, Japón, en 1995, dispersó aerosoles de ántrax y botulismo hasta en ocho ocasiones; por razones desconocidas el ataque no produjo enfermedad.

La liberación accidental en aerosol de esporas de ántrax de una institución militar de microbiología en Sverdlovsk en la antigua Unión Soviética en 1979, produjo, por lo menos, 79 casos de infección por ántrax y 68 muertos, lo que demuestra el potencial letal del ántrax aerosolizado. Ántrax en aerosol puede no tener olor y ser invisible luego de su liberación y podría tener el potencial de viajar muchos kilómetros antes de su diseminación. Evidencias sugieren que luego de su liberación en aerosol fuera de la casa, las personas dentro de ella podrían estar expuestas a condiciones similares de las que están fuera.

En 1970, un comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud estimó que una liberación aérea teórica de 50 kilos de ántrax en una población urbana de cinco millones afectarían a 250 000 habitantes, de los cuales 100 000 morirían de no contar con tratamiento. En 1993 un reporte en los Estados Unidos estimó que entre 130 000 y 3 millones de muertes podrían producirse por la liberación en aerosol contra el viento de 100 kilos de esporas de ántrax en Washington D.C.; la letalidad sería superior a la de una bomba de hidrógeno. Un modelo económico desarrollado por el

CDC sugiere un costo de 26,2 billones de dólares por 100 000 personas expuestas.

El ántrax probablemente haya llegado al Perú con el intercambio biológico que se produjo durante la conquista. El médico peruano Hermógenes Maúrtua realizó estudios sobre ántrax, diez años después de iniciada la guerra con Chile, publicó el libro: «La vacuna carbonosa», en el que propone la vacunación del ganado contra el ántrax.

Durante la era preantibiótica en el Perú se desarrollaron trabajos de tesis sobre el tratamiento del ántrax, como la desarrollada por Aspiazu que enfoca el tratamiento del ántrax cutáneo con formol, y la desarrollada por Escobar que propone el tratamiento quirúrgico. A fines del siglo XIX otro médico peruano, utilizó inyecciones endovenosas de ácido fénico para el tratamiento del carbunco, aunque este tipo de tratamiento fue abandonado por su efecto tóxico.

EPIDEMIOLOGÍA

En su forma natural, el ántrax es una enfermedad de animales herbívoros domésticos o salvajes que expulsan bacilos al desangrarse. Al exponerse al aire, las formas vegetativas esporulan y las esporas pueden mantenerse viables en el suelo durante años. Así, la piel de animales y los cueros secos también pueden contener esporas durante años. Los seres humanos y animales carnívoros son huéspedes accidentales; es una enfermedad endémica en áreas agrícolas de todo el mundo.

El ántrax es considerado un riesgo ocupacional de trabajadores ganaderos o agrícolas que manipulan animales infectados. Los cambios ambientales, tales como inundaciones o sismos se han relacionado con la aparición de epizootias¹.

La mayoría de las infecciones naturales (95%) se producen por el contacto entre la piel del huésped y los tejidos de animales que han muerto de la enfermedad, como pelo, cuero, lana, etc., e incluso, por productos elaborados con estos tejidos.

La infección intestinal u orofaríngea es ocasionada por la ingestión de carne contaminada, mientras que la infección adquirida por vía inhalatoria es poco frecuente como infección natural, estando relacionada con ciertos procesos industriales como el curtido de cuero o el procesamiento de lana, en los cuales es posible la diseminación de esporas como aerosoles.

La enfermedad en el Perú es endémica. En 1904 el doctor Ricardo Pazos Varela presentó su tesis sobre la seroterapia del carbunco. De 1990 a 1992 se notificaron 460 casos de carbunco (ántrax); el mayor número de casos (223) se registró en 1992; en 1993 y 1994 no se notificaron casos; en 1995 se comunicaron 25 y en 1996, 12. Se han continuado observando casos en los años 1997 y 1998 en forma esporádica, particularmente en los departamentos de Lima e Ica, así como la provincia constitucional del Callao. Bajas coberturas de vacunación del ganado bovino, caprino y ovino estarían relacionadas con el problema.

¹ En veterinaria una epizootia (del griego, epi, por sobre y zoon, animal) es una enfermedad contagiosa que ataca a un número inusual de animales al mismo tiempo y lugar y se propaga con rapidez. Su término equivalente en medicina es epidemia. El término epizootia está cayendo gradualmente en desuso puesto que en la actualidad se prefiere el término epidemia. (disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Epizootia>).

Una investigación epidemiológica retrospectiva de un brote epidémico de carbunco ocurrido en enero de 1995 en una localidad ubicada en la Provincia Constitucional del Callao reveló que la fuente de infección por *Bacillus anthracis* fue el contacto directo con animales (vacas, cerdos). Las manifestaciones clínicas más comunes fueron fiebre, cefalea y lesión cutánea característica. En mayo de 1995 se realizó el estudio de otro brote epidémico de carbunco, registrado en el Centro Poblado de Pampa Grande en Pachacámac produciéndose un total de ocho casos, cinco mujeres y tres varones. La edad promedio fue de 31,25 años con un rango de edad de 16-57 años, con un tiempo de enfermedad promedio de tres días, siendo el contagio en todos los casos, a través de manipulación y consumo de carne; además se presentó compromiso de piel, caracterizado por lesiones papulares pruriginosas e indoloras, seguido de lesión ulcerativa con necrosis central negruzca (75%), acompañado de leve edema local periulcerativo (75%).

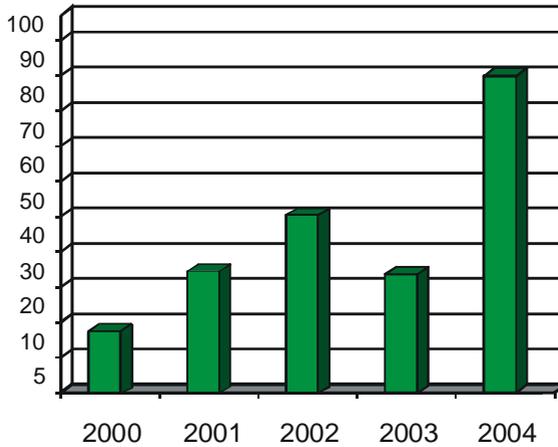
Todos presentaron lesiones en miembros superiores y un caso en miembros inferiores. El 25% de los pacientes mostró fiebre cuantificada en 38 °C. Uno de los casos fue un paciente VIH (+), quien presentó cuatro lesiones papulares pruriginosas pequeñas no ulcerativas, no tuvo fiebre pero si una buena respuesta al tratamiento único con oxitetraciclina por diez días.

En los Estados Unidos, entre 1981 y 1990, sólo se comunicaron cuatro casos de ántrax. Poco después de los atentados perpetrados en Nueva York en septiembre de 2001, en diferentes ciudades de Estados Unidos se han reportado casos sospechosos de ántrax transmitidos por vía inhalatoria a través de correspondencia contaminada.

Entre septiembre y octubre de 2001, fueron confirmados 20 casos, dos de los cuales fueron fatales.

En nuestro país, desde el 15 de octubre del año 2001 se fueron reportando la existencia de correspondencia sospechosa de contener ántrax. Más de 300 sobres sospechosos fueron examinados por el Instituto Nacional de Salud, todos con resultados negativos. Sin embargo, un paquete de seis sobres que llegaron de Washington a Lima el jueves 25 de octubre de 2001, fue informado como positivo por el laboratorio del Centro de Investigación Médica de la Marina de Estados Unidos ubicado en el Perú (NAMRID).

Gráfico 1. Casos confirmados y probables de ántrax presentados en el Perú entre los años 2000 a 2004.



ETIOLOGÍA

El *Bacillus anthracis* es una bacteria patógena. Su longitud es de 4 a 8 μm y su espesor de 1 a 1,25 μm . La forma vegetativa se observa en el cultivo como cadenas largas de extremos cóncavos similar a una caña de bambú. Las esporas crecen rápidamente en todos los medios de cultivo ordinarios de laboratorio a 37 °C. el tamaño de la spora es aproximadamente 1 μm .

La cápsula es producida por cepas virulentas de *Bacillus anthracis* cuando crecen en medios especiales incubados al 20% de CO_2 . El material capsular no es un polisacárido como en la mayoría de las bacterias sino un polipéptido.

El *Bacillus anthracis* forma esporas cuyo diámetro no excede al de la forma vegetativa, se forman en mayor cantidad entre 32 a 35 °C y sólo en aerobiosis, no *in vivo*.

Los bacilos son grampositivos, inmóviles, se tiñen fácilmente con colorantes de anilina. Las colonias son irregulares, de estructura risada a las que se denomina «cabeza de medusa» fácilmente visibles.

En los medios de cultivo ricos en suero o en atmósfera con 20% de CO_2 , las colonias son de tipo liso (S), regulares. Las colonias de tipo rugoso (R) están formadas por gérmenes desprovistos de cápsula.



Figura 1. El *Bacillus anthracis* es una bacteria patógena. Su longitud es de 4 - 8 μm y su espesor de 1 - 1,25 μm .

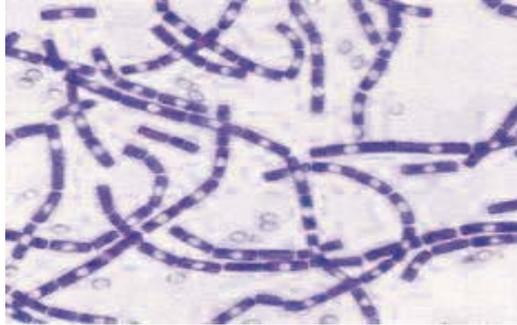


Figura 2. La forma vegetativa se observa como cadenas largas de extremos cóncavos similar a una caña de bambú.

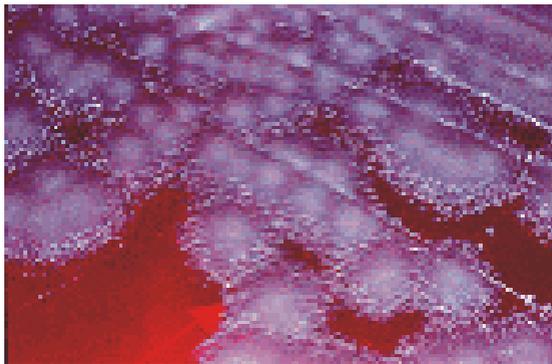


Figura 3. Las colonias son irregulares, de estructura risada, lo que se denomina «cabeza de medusa» fácilmente visible.

FISIOLOGÍA Y METABOLISMO

El *Bacillus anthracis* no es exigente, crece en todos los medios ordinarios de laboratorio, crece bien en agar sangre y no es hemolítico. La temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C y pueden crecer hasta en 40 °C.

Es anaerobio facultativo. Las condiciones aeróbicas son requeridas para la esporulación. La temperatura óptima de esporulación es de 25 a 37 °C, el oxígeno del aire es indispensable y en un medio pobre la favorece.

La antigenicidad del *Bacillus anthracis* se debe a dos grupos de antígenos, los antígenos celulares (antígeno capsular y antígeno somático) y los componentes de la exotoxina.

Cápsula. Compuesta por un polipéptido de ácido D-glutámico. Es antifagocítica y cumple un papel importante en la patogenia. Su presencia condiciona la virulencia del germen. Lo protege contra los mecanismos de defensa celulares y humorales del organismo. Convierte en incoagulable la sangre de los animales enfermos y es responsable de las reacciones inflamatorias y necróticas.

Exotoxina. Es producida sólo *in vivo* en los tejidos de los animales infectados. La exotoxina presenta tres componentes:

1. Factor edema.
2. Factor antígeno protector.
3. Factor letal.

Cada uno por separado no produce ningún efecto en el huésped.

Cepas. Hay dos variantes colonizantes, Lisa (S) y Áspera (R) que están relacionadas con la habilidad de formar la cápsula. Las variantes de R son relativamente avirulentas. La cápsula no es tóxica, actúa como protección contra la fagocitosis y cumple su papel más importante durante el establecimiento de la infección y un papel menos significativo en las fases terminales de la enfermedad que es mediada por la toxina del ántrax.



Figura 4. Colonias de *Bacillus anthracis* después de 24 horas a 37 °C. En agar sangre la colonia es no hemolítica de característica pegajosa que puede verse al tocarla con un asa de siembra. También puede verse el borde rugoso.

ETIOPATOGENIA

Una vez que las esporas han entrado al organismo por cualquiera de las vías ya descritas (cutánea, oral o respiratoria), se depositan en la placa subcutánea, mucosa gastrointestinal o espacios alveolares. En la localización cutánea y gastrointestinal se produce germinación de la bacteria en pocas cantidades, pero que produce edema y necrosis local. Luego las esporas son fagocitadas por los macrófagos y llevadas a los ganglios linfáticos regionales. Dentro del macrófago las esporas germinan y toman la forma vegetativa, produciendo una linfadenitis hemorrágica regional. Al ser liberadas empiezan a multiplicarse e invaden el torrente sanguíneo. Cuando llegan a una concentración de 10^7 a 10^8 organismos por mL de sangre causan septicemia masiva. En unos pocos casos, el ántrax sistémico lleva a una complicación meníngea por medio de diseminación linfática o hematógena. La linfadenitis hemorrágica peribronquial puede bloquear el drenaje linfático y causar edema pulmonar. La muerte resulta de septicemia, toxemia o complicaciones pulmonares y puede ocurrir de uno a siete días después de la exposición (Figura 5).

Los principales factores de virulencia del *Bacillus anthracis* son el polipéptido capsular y la toxina de ántrax. La cápsula esta compuesta por ácido poli-D-glutámico que le confiere resistencia para la fagocitosis. La toxina del ántrax está conformada por tres factores: factor edema, factor letal y el antígeno protector. Éste último es una proteína de 83-kd y el papel que cumple este último es el de adherirse a la superficie de la célula y facilitar la entrada de los otros dos factores. Es así que, el antígeno protector cuando se combina con el factor edema forman la toxina edema y cuando se combina con el factor letal forman la toxina letal. Este es el principal factor de virulencia del *Bacillus anthracis* y es la causa de muerte en los animales infectados.

Los factores de virulencia mencionados se encuentran codificados en dos plásmidos, el pXO1 y el pXO2. La toxina edema es una adenilato ciclasa dependiente de calmodulina y convierte la adenosina trifosfato en adenosina monofosfato cíclico (AMPc), incrementando sus concentraciones intracelulares.

Niveles incrementados de AMP cíclico altera la homeostasis del agua, lo cual sería la causa del edema masivo en el ántrax cutáneo. También inhibe la función de los neutrófilos. La toxina letal es una metaloproteasa de zinc; dentro del macrófago induce un influxo de calcio y la inhibición de la síntesis

de macromoléculas. Causa también apoptosis y necrosis vía proteínas fosfatasa, produciendo la lisis del macrófago en dos horas. Estimula al macrófago a liberar el factor de necrosis tumoral α e interleukina- 1β , las cuales son parcialmente responsables de la muerte súbita en el ántrax sistémico. Se cree que IL-1 y otros mediadores pro inflamatorios son almacenados dentro del macrófago en los inicios de la infección por ántrax, cuando los niveles de la toxina son menores que las concentraciones críticas requeridas para la lisis. Posteriormente, cuando la infección progresa y el número de bacterias se incrementa, el umbral para lisis es alcanzado y grandes cantidades de mediadores preformados son liberados a la circulación. Esta rápida liberación de mediadores inflamatorios puede explicar la muerte súbita en los pacientes con ántrax. Para evaluar la hipótesis que los macrófagos son importantes en la patogénesis de la enfermedad, se ensayó la aplicación de la toxina letal en ratones depletados de macrófagos y en ratones normales. En estos últimos, la sobrevivencia fue <10 % mientras que los ratones depletados de macrófagos fue de 100%.

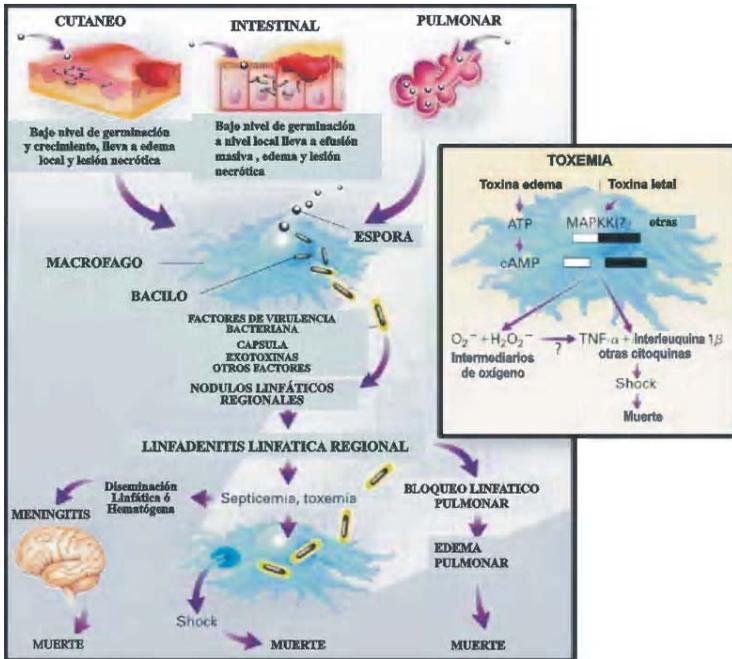


Figura 5. Síntesis del desarrollo etiopatogénico del ántrax.

Fuente: NEJM 1999; 341: 815 - 826.

Dosis infecciosa:

Para la forma cutánea es probable que no sean necesarias muchas esporas para producir infección. El riesgo es incrementado significativamente cuando existen abrasiones en la piel, lo cual logra disminuirse con el uso de guantes, lavado de manos y cubriendo las heridas que pudiera tener la persona. Para el ántrax inhalatorio, la dosis letal 50 (DL50) en primates es de 2500 a 760 000 esporas. Se estima que para los humanos la DL 50 debe ser 8000 a 10 000 esporas. Ello evidencia que es necesaria una exposición sustancial para que el riesgo de enfermedad sea significativo. La probabilidad que las esporas penetren lo suficiente como para inducir ántrax por inhalación depende del tamaño de las partículas a las cuales están adheridas. Una espora de un tamaño por encima de 5 µm de diámetro difícilmente alcanzará los alvéolos. En relación a la infección por la ruta oral, el riesgo es incrementado con la existencia de una lesión en el epitelio a través de la cual la espora pueda entrar.

PATOLOGÍA

Ántrax cutáneo

El examen histológico de la lesión cutánea muestra necrosis y edema masivo con infiltrado linfocitario. No hay licuefacción ni formación de abscesos, indicando que las lesiones no son supurativas. Puntos focales de hemorragia son evidentes, con alguna trombosis. La tinción de Gram revela bacilos en el tejido subcutáneo.

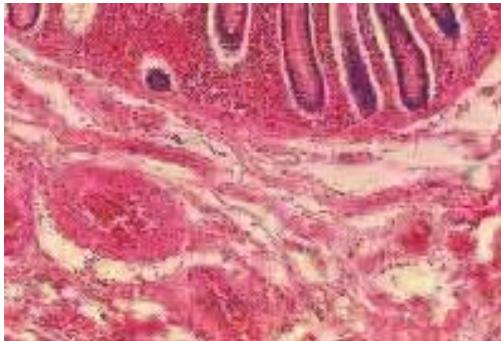


Figura 6. Histopatología del intestino delgado mostrando trombosis y edema en submucosa.

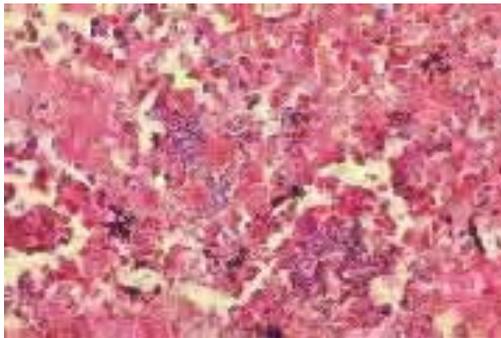


Figura 7. Histopatología de ganglio linfático mediastinal, mostrando el *Bacillus anthracis*.

Fuente: <http://www.emedicine.com/med/topic148.htm>

Ántrax inhalacional

Los hallazgos en monos Rhesus con esta forma de la enfermedad, en la microscopía de luz consisten en edema, hemorragia y necrosis.

La hemorragia fue vista en ganglios mediastinales, mesentéricos y traqueobronquiales, en las meninges, pulmones y serosa del colon.

La revisión de las 42 autopsias de los pacientes que fallecieron en el accidente en la Unión Soviética en 1979, confirman estas observaciones. Todos tuvieron linfadenitis torácica hemorrágica y mediastinitis. El ántrax inhalacional no es considerado usualmente causa de neumonitis o neumonía; sin embargo, 11 de los casos presentaron neumonía necrotizante y hemorrágica focal. También se encontró leptomeningitis hemorrágica en 21 casos y lesiones gastrointestinales en 39 casos. Edema es también un hallazgo significativo, incluyendo edema gelatinoso del mediastino, derrame pleural, edema leptomeníngeo y edema pulmonar.

Ántrax gastrointestinal y orofaríngeo

Los bacilos pueden ser observados microscópicamente en el tejido linfático de la mucosa y submucosa y hay evidencia de linfadenitis mesentérica. Siempre es vista una ulceración, no estando claro si es por una infección bacteriana o es causada por la toxina del ántrax. El examen microscópico de los tejidos afectados revela edema masivo y necrosis de la mucosa en los sitios infectados. Se observa infiltrado inflamatorio que es similar al observado en la forma cutánea.

En el ántrax orofaríngeo se observa edema cervical y linfadenopatía local. Pueden ser vistas lesiones en la orofaringe y usualmente tienen la apariencia de ulceraciones pseudomembranosas.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las tres formas de manifestaciones clínicas de ántrax en humanos son: la cutánea, pulmonar y gastrointestinal. De las tres formas, las dos últimas, pueden ser fatales, si no son tratadas oportunamente. Más de 95% de los casos de ántrax tiene manifestaciones cutáneas. Antes del uso de antibióticos y de la vacuna, de 10 a 20% de las formas cutáneas evolucionaban a formas fatales.

Las formas gastrointestinales y pulmonares son las más letales, porque no son reconocidas oportunamente, lo que retrasa el tratamiento; sin embargo, evidencias epidemiológicas y serológicas sugieren que formas gastrointestinales y pulmonares leves, no diagnosticadas, pueden ocurrir y no son infrecuentes entre los expuestos. El desarrollo de las meningitis es un riesgo potencial de las tres formas de ántrax.

I. Ántrax Cutáneo

El período de incubación puede oscilar entre nueve horas a 14 días, en promedio es de dos a siete días. La evolución es la siguiente:

- Día 0 Entrada de la infección por *Bacillus anthracis* (usualmente esporas) a través de una lesión superficial (corte, abrasión, picadura de insectos, etc.).
- Días 2-3 Aparece un pequeño grano o pápula.
- Días 3-4 Un anillo de vesículas rodea a la pápula. El fluido vesicular puede tener un exudado. Empieza a desarrollar marcado edema. A menos que exista una infección secundaria no hay pus en la lesión y no hay dolor, aunque puede haber dolor en nódulos linfáticos satélites a la lesión.
- Días 5-7 La pápula original se ulcera (Figura 8). El edema se extiende a mayor distancia de la lesión. Las manifestaciones clínicas pueden ser más graves, si las lesiones están ubicadas en la cara, el cuello o el pulmón. En estas formas más graves se puede evidenciar fiebre alta, adenopatía regional dolorosa, edema extenso, toxemia, *shock* y puede devenir la muerte.
- Día 10 La lesión empieza su resolución, toma casi seis semanas, y no se acelera por el tratamiento. Un pequeño número de pacientes que no recibe tratamiento puede desarrollar ántrax sistémico con sintomatología hiperaguda.

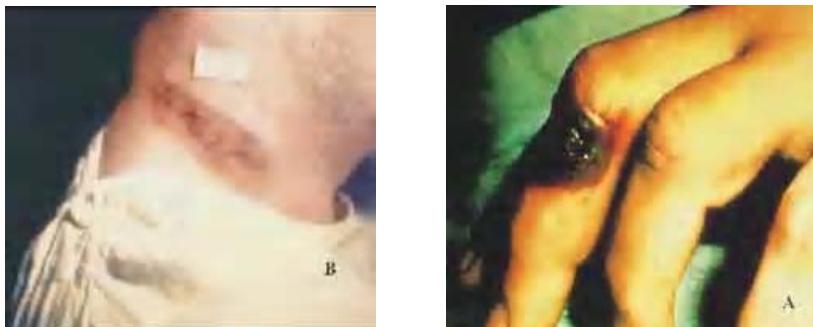


Figura 8. Lesiones de ántrax cutáneo en falange media del dedo (A), y en el cuello (B). Fuente: <http://www.emedicine.com/med/topic148.htm>.

Diagnóstico diferencial

Quemaduras (lesión inicial), chancro sífilítico, erisipela, úlcera tropical. En estos falta el edema que es característico del ántrax. La ausencia de pus, la falta de dolor y la ocupación de paciente pueden orientar al diagnóstico.

En las formas cutáneas graves de ántrax, que incluyen cara y cuello, el diagnóstico diferencial debe considerar a la celulitis de órbita, dacriocistitis y la infección de tejidos profundos del cuello. También en esta forma de presentación deben considerarse, las infecciones necrotizantes de tejidos blandos, particularmente infección por estreptococos, la gangrena gaseosa y la celulitis severa por estafilococos.

II. Ántrax gastrointestinal

Ocurre luego de la ingestión de *Bacillus anthracis* con agua o alimentos contaminados.

Se pueden dar las siguientes formas:

1. Ántrax intestinal: Los síntomas incluyen náuseas, vómito, fiebre, dolor abdominal, diarrea con sangre y ascitis masiva. Si no hay tratamiento temprano conlleva al desarrollo de toxemia y *shock*. Hay evidencias que casos leves no diagnosticados se recuperan satisfactoriamente de la enfermedad.

2. Ántrax orofaríngeo: Las manifestaciones clínicas incluyen dolor de garganta, disfagia, fiebre, linfadenopatía regional del cuello y toxemia. Inclusive con tratamiento la mortalidad es alrededor de 50%.

Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial incluye envenenamiento (en estadios tempranos del ántrax intestinal); abdomen agudo debido a otras causas; gastroenteritis hemorrágicas debido a otros microorganismos, particularmente debido a *Clostridium perfringens*. En el ántrax faríngeo se debe considerar como diagnóstico diferencial, la faringitis estreptocócica, angina de Vincents, angina de Ludwig, absceso parafaríngeo e infección de tejidos blandos del cuello.

III. Ántrax pulmonar

Los síntomas no son específicos y requieren de la sospecha de ántrax en razón al conocimiento de la historia del paciente. La enfermedad tiene un inicio insidioso, con fiebre, malestar, fatiga, dolor torácico de uno a más días. Esta fase inicial es seguida por el desarrollo súbito de disnea, cianosis, desorientación y muerte. La muerte ocurre dentro de las 24 horas de la fase hiperaguda.



Figura 9. Mecanismo de infección en el ántrax inhalacional.

Fuente: <http://www.emedicine.com/med/topic148.htm>

Esporas aerosolisadas de ántrax mayores a 5µm de tamaño son depositadas en las vías respiratorias altas (faringe, laringe y tráquea) y pueden ser atrapadas y eliminadas efectivamente por el sistema mucociliar.

Esporas ente 2 y 5 mm de tamaño pueden llegar a los ductos alveolares y a los alvéolos. Estas esporas son captadas por macrófagos pulmonares y transportados a los ganglios linfáticos mediastinales e hiliares. Luego de un período de germinación, una gran cantidad de toxina es producida. A partir de estos ganglios la toxina es diseminada por la circulación sistémica, dando como resultado edema, necrosis y shock séptico que conlleva al fallecimiento. Aunque el microorganismo es inicialmente transportado a los ganglios mediastinales, un mayor lugar para su desarrollo es el mediastino (Figura 9a). El edema y toxina letal causan una mediastinitis hemorrágica, que es típica del ántrax inhalacional.

La dosis inhalatoria mínima necesaria para causar infección en el humano no está bien determinada. En chimpancés, esta dosis es de 40 000 a 65 000 esporas. El Departamento de Defensa de los Estados Unidos, estiman que la dosis letal de 50% para sujetos expuestos está entre 8000 y 10 000 esporas. En la naturaleza, el ántrax inhalacional es usualmente de comportamiento bifásico. El período de incubación es alrededor de seis días. El inicio de la primera etapa es insidioso y dura en promedio cuatro días, se presentan: mialgias, malestar, fatiga, tos no productiva, sensación de opresión retroesternal y fiebre. Antes de iniciar una segunda etapa, que en promedio dura 24 horas, puede haber una transitoria y aparente mejoría, luego de lo cual se desarrolla un rápido deterioro del paciente presentando distrés respiratorio, hipoxemia y cianosis, terminando con la muerte. En algunos casos puede presentarse hipotermia y desarrollar *shock*. Al examen clínico hay evidencias de efusión pleural. En 50% de los casos puede haber complicación meníngea. La radiografía de tórax muestra aumento del mediastino y efusión pleural, pudiendo el parénquima pulmonar parecer normal (Figura 9b).

IV. Meningitis por ántrax

La meningitis por ántrax es una seria manifestación que se desarrolla a partir de las otras tres manifestaciones clínicas descritas. La tasa de letalidad es cercana al 100%. Se observan signos de meningitis, con intensa inflamación de las meninges, marcada elevación de la presión del líquido cefalorraquídeo (LCR) y la aparición de sangre en éste, seguido de compromiso de conciencia y muerte. En muy pocos casos, en los que se sospecha de ántrax y se instaura tratamiento tempranamente, puede haber recuperación.

El diagnóstico diferencial incluye a otras etiologías bacterianas. El diagnóstico definitivo es obtenido por la visualización del bacilo capsulado en el LCR o en el cultivo.

V. Sepsis por ántrax

La sepsis en el ántrax se desarrolla después de la diseminación del *Bacillus anthracis* por vía linfática y hematógena, a partir de una lesión primaria (cutánea, gastrointestinal o pulmonar). Las manifestaciones clínicas son fiebre alta, toxemia y *shock* con la consiguiente muerte en un período relativamente corto.

En el diagnóstico diferencial debe ser considerada la sepsis por otras bacterias.

El diagnóstico definitivo es hecho mediante el aislamiento bacteriano de la lesión primaria y de los hemocultivos.

DIAGNÓSTICO

1. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE *Bacillus anthracis*

Generalidades

- Los procedimientos descritos son exclusivos para la búsqueda de *Bacillus anthracis* y su diagnóstico diferencial con otras bacterias. Si se sospecha otro tipo de agentes, se deben utilizar medios y procedimientos adecuados para cada uno de ellos.
- Se deben tomar las precauciones de bioseguridad descritas en el capítulo correspondiente, teniendo en cuenta que es una bacteria que se puede transmitir por aerosoles y que se debe manejar en una cabina de seguridad biológica.
- Una de las características más importantes de esta bacteria es la presencia de esporas resistentes.

Obtención de muestras

Materiales

- Hisopos con punta de dacrón o de algodón.
- Frascos de plástico estériles descartables.
- Material para obtención de hemocultivos.
- Láminas portaobjetos.
- Tubos estériles.
- Medio de transporte de Cary-Blair o de Aimes.
- Láminas portaobjetos nuevas, limpias y desengrasadas.
- Recipiente estéril de boca ancha para obtención de muestra focal.

Ántrax cutáneo

- Vesículas: Realizar la asepsia de la piel alrededor de las vesículas, usando alcohol al 70%. Embeber dos hisopos estériles secos en el fluido de las vesículas a partir de una que esté intacta. Colocar en un tubo seco estéril. Realizar dos extensiones en láminas portaobjetos.

- Escaras: Realizar la asepsia de la piel alrededor de la escara con alcohol al 70%. Rotar dos hisopos debajo del borde de la escara negra sin removerla. Colocar en un tubo seco estéril. Realizar dos extensiones en láminas portaobjetos.

Ántrax gastrointestinal

- Obtener una muestra de heces en lo posible.
- En fases tardías de la enfermedad, los hemocultivos pueden ser positivos, sobre todo si se han tomado antes de la administración de antibióticos.

Ántrax por inhalación

- Si hay presencia de síntomas respiratorios y el paciente puede expectorar, se debe obtener una muestra de esputo para Gram y cultivo.
- En fases tardías de la enfermedad (dos a ocho días postexposición), los hemocultivos pueden ser positivos, sobre todo si se han tomado antes de la administración de antibióticos.
- Despistaje en contactos.
- Utilizando hisopos con punta de dacrón, rayón u otro material sintético, se obtienen muestras de ambas fosas nasales, de la cara y de las manos.

Investigación de objetos o sobres sospechosos

- La apertura de un sobre sospechoso sólo se debe realizar en una cabina de seguridad biológica y usando guantes, protección respiratoria y colocando un campo que permita absorber cualquier espora que pueda salir del sobre o envoltorio.
- Con un hisopo recorrer la parte interna del sobre y los documentos que contenga.
- Si hay presencia de material como polvo o tierra, recoger un poco de este material y depositarlo en dos viales estériles con tapa rosca, usar el polvo para inocular los medios de cultivo.

Transporte de las muestras

- Las muestras colectadas, debidamente acondicionadas e identificadas como «material de riesgo biológico», son remitidas para el diagnóstico de laboratorio acompañadas de una ficha clínica y un protocolo de necropsia de ser el caso.
- Las muestras deben ser inoculadas y enviadas lo más rápido posible.
- Las muestras o hisopos pueden ser transportadas en tubos secos estériles o en medios de transporte. Las bacterias del género *Bacillus* permanecerán viables debido a la formación de esporas, mientras que otras bacterias perderán viabilidad.
- Las muestras en ningún caso deben ser refrigeradas (esto evita la formación de esporas).
- Las muestras de sangre para hemocultivos deben ser inoculadas en medios de hemocultivo y transportadas a temperatura ambiente, si es que no se pueden procesar en el laboratorio de origen.
- En caso de obtener resultados negativos de la enfermedad en sospecha, se realiza un diagnóstico diferencial de otras enfermedades.

Procesamiento de los cultivos

Materiales necesarios

- Placas de agar sangre de carnero (ASC).
- Placas de agar tripticasa soya (TSA).
- Placas de agar Mac Conkey.
- Caldo tripticasa soya.
- Láminas portaobjetos.
- Hisopos con punta de algodón.
- Asas de cultivo descartables.

Muestras clínicas de hisopado de piel, esputo

- Inocular la muestra en una placa de ASC y otra de TSA, sembrar por agotamiento e incubar por 18 horas a 35 °C en atmósfera normal (Figura 10).

- Realizar extendidos y colorearlos con Gram.
- Los medios de cultivo usuales son adecuados para el aislamiento de *Bacillus anthracis*.
- Puede haber suficiente cantidad de bacterias en la sangre, como para verlas en extendidos coloreados con Gram. *Bacillus anthracis* aparece en cadenas cortas de dos a cuatro bacterias encapsuladas que se evidencia por la presencia de zonas claras alrededor del bacilo.
- Si el frasco de hemocultivo indica crecimiento, hacer una coloración de Gram y buscar la presencia de bacilos grampositivos encapsulados, además se debe realizar un subcultivo en ASC y TSA.



Figura 10. Cultivo de una muestra en agar sangre. Cultivos de sangre.

Muestras de heces

- Realizar cultivos en ASC, TSA y agar Mac Conkey.

Muestras de líquido céfaloorraquídeo (LCR)

- Centrifugar las muestras de LCR a 1500 g por 15 minutos.
- Decantar el sobrenadante.
- Con el sedimento realizar una coloración de Gram.

- Inocular el sedimento en una placa de ASC, una de TSA que se colocan a 35 °C otra de agar chocolate de carnero a 35 °C con atmósfera de CO₂.
- Inocular placas adicionales de acuerdo al resultado de la coloración de Gram.

Incubación y examen de los cultivos

- Los cultivos deben incubarse a 35-37 °C en condiciones normales de oxígeno.
- Los cultivos deben examinarse entre las 18 a 24 horas de incubación.
- El crecimiento de *Bacillus anthracis* puede observarse incluso con ocho horas de incubación.

Pruebas diferenciales para la identificación presuntiva de *Bacillus anthracis*

Características de la colonia

- En ASC, las colonias aisladas de *Bacillus anthracis* tienen un diámetro de 2 a 5 mm, son planas o ligeramente convexas, irregularmente redondas con los bordes ligeramente ondulados y presentan una apariencia de vidrio pulido. Se observa la presencia de pequeñas proyecciones en los bordes de la colonia, que se describe como la «cabeza de Medusa».
- Las colonias tienen una consistencia densa (tenaz). Cuando se levantan con el asa de cultivo, la colonia se levanta como si fuera clara batida.
- Las colonias de *Bacillus anthracis* no son hemolíticas, mientras que las colonias de otros bacillus como *B. cereus* o *B. thuringiensis* son β-hemolíticas. Sin embargo se puede observar una hemólisis débil en áreas de crecimiento confluyente en cultivos viejos, lo cual no debe ser confundido con β-hemólisis.
- Se debe comparar el crecimiento obtenido en ASC con los otros medios. *Bacillus anthracis* crece rápidamente pudiendo observarse crecimiento en 6 a 8 horas y colonias individuales entre 12 a 15 horas. Esto puede servir para aislarlo a partir de cultivos con presencia de otras bacterias de crecimiento lento.

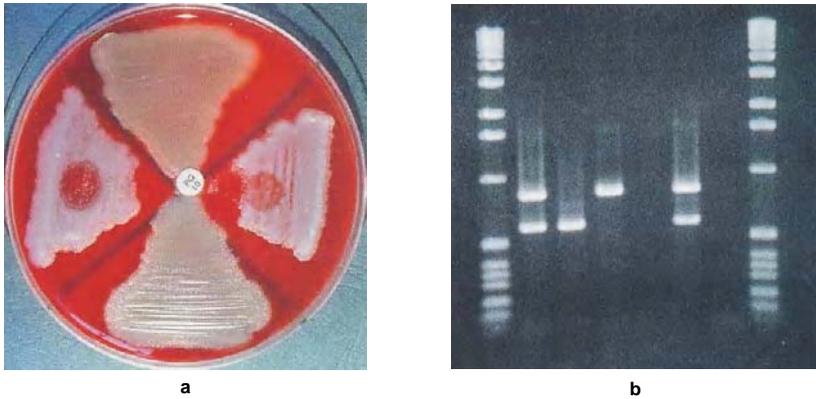


Figura 11. En (a) el cultivo de agar sangre se muestran dos cultivos: uno de *Bacillus anthracis* (al este y oeste) y otro de otra especie de *Bacillus* (al norte y sur). El *Bacillus anthracis* es no hemolítico y sensible a penicilina.

En (b) la PCR es usada para confirmar la virulencia de un aislamiento, la línea 2 y 6 muestra la presencia de la cápsula y genes de la toxina caracterizando la virulencia del *B. anthracis*. La línea 3 muestra solamente la presencia de la toxina del gen de *B. anthracis* cepa vacunal Sterne 34F2. Línea 4 muestra solamente la presencia del gen de la cápsula, *B. anthracis* cepa Pasteur. El DNA en la línea 5 carece de ambos genes. La línea 7 es control de agua. Las líneas 1 y 8 son marcadores de peso molecular.

Coloración de Gram

- Realizar la coloración de Gram con los procedimientos descritos.
- *Bacillus anthracis* es un bacilo grampositivo largo (1-1,5 X 3-5 μm), con esporas ovales centrales o subterminales (1 X 1,5 μm). Las esporas no se observan en las muestras clínicas.
- Las células vegetativas que se observan en la sangre o en las lesiones son cadenas cortas de dos a cuatro bacterias encapsuladas.
- Las bacterias a partir del ASC se observan como cadenas largas, no encapsuladas.

Demostración de cápsula en muestras clínicas (Sangre o LCR)

- Materiales: láminas portaobjetos y cubreobjetos, tinta china (Pelikan ® o Rotring ®) y microscopio con objetivo de inmersión 100x.
- Controles:
 - Positivo: *Klebsiella pneumoniae* en TSA.
 - Negativo: *E. coli* ATCC 25922 en TSA.

- Procedimiento: Tomar 5 a 10 µl de la sangre o LCR y colocarlo en una lámina portaobjetos y cubrirlo con un cubreobjetos. Añadir 5 a 10 µl de tinta china en uno de los bordes del cubreobjetos, esperar que la tinta china se extienda en la lámina y observar con objetivo de 100x colocando aceite de inmersión encima del cubreobjetos.
- Realizar pruebas de control con las cepas patrón todos los días que se realice la prueba.
- Interpretación: La cápsula aparece como una zona clara bien definida alrededor de las células en los casos positivos, mientras que no hay zonas en las muestras negativas.

Movilidad

- Finalidad: Demostrar la presencia de movilidad en un tubo con medio SIM.
- Materiales: Medio de movilidad SIM en tubos 13 x 100 con 4 mL de medio y aguja de inoculación.
- Controles: positivo con *Pseudomonas aeruginosa* o *Escherichia coli* y negativo con *Acinetobacter spp* o *Klebsiella pneumoniae*.
- Procedimiento: Usando una aguja de inoculación, sembrar en forma perpendicular en el medio y retirar la aguja de tal manera que se forme sólo un línea de inoculación. Incubar a 35-37 °C por 18 a 24 horas.
- Realizar el mismo procedimiento para los cultivos y las cepas patrón cada vez que se realice la prueba.
- Interpretación: las bacterias inmóviles formarán una sola línea de crecimiento en el lugar de la inoculación. Las bacterias móviles tendrán un crecimiento difuso alrededor de la línea de inoculación.

Identificación presuntiva y reporte

- En muestras clínicas. Bacilos grampositivos encapsulados: Bacilos sospechosos de *Bacillus anthracis*.
- Cultivos de muestras clínicas. Bacilos grampositivos con esporas ovales que no deforman la célula, colonias de aspecto de vidrio pulido, inmóviles y no hemolíticos: *Bacillus anthracis*.
- Cultivos de muestras ambientales con similares características. Cultivo sospechoso de *Bacillus anthracis*.



Figura 12. Toma de muestra de material contaminado.

Envío de cultivos

- Todos los cultivos sospechosos de ser *Bacillus anthracis* deben ser enviados al Instituto Nacional de Salud para su confirmación y pruebas complementarias.
- Se debe sembrar en un tubo con agar tripticasa de soya en plano inclinado y enviarlo lo más pronto posible.
- Los cultivos deben ser enviados siguiendo las normas de bioseguridad para envío de muestras y cultivo, es decir envolver en tubo con gasa o algodón y colocarlo en un recipiente a prueba de golpes y derrames (plástico o metal) y luego ser colocado en un envase secundario como una caja de cartón resistente. Se debe colocar el remitente y las etiquetas de seguridad correspondientes.

Pruebas confirmatorias en el laboratorio de referencia

- El Laboratorio de Referencia Nacional en el Centro Nacional de Laboratorios en Salud Pública tiene como finalidad confirmar la presencia de *Bacillus anthracis* en muestras clínicas y obtenidas del

medio ambiente y realizar pruebas especiales para determinar su patogenicidad, virulencia, susceptibilidad antibiótica, diferenciando de cepas vacunales y otras especies de *Bacillus* que puedan tener similares características. Para lo cual se pueden realizar las siguientes pruebas:

- Demostración de la presencia de cápsula utilizando agar bicarbonato de sodio 0,8% y CO₂.
- Lisis por fago gamma.
- Crecimiento en anaerobiosis.
- Prueba del crecimiento en forma de cadena de perlas.
- Susceptibilidad antibiótica para penicilina, doxiciclina, amoxicilina/ácido clavulánico y ciprofloxacina.
- PCR para determinar la presencia de marcadores de virulencia: plásmidos, toxinas, cápsula (realizados por laboratorios de referencia internacionales).
- Nuevas técnicas han enfocado el uso de la Reacción de la Cadena de Polimerasa.
- Amplifica marcadores específicos de plásmidos de virulencia en diferentes cepas de *Bacillus anthracis*.
- Este método es de gran utilidad en el diagnóstico y caracterización de toxinas para ver eficacia de la vacuna anticarbonosa.

Muestras nasales para descarte de *Bacillus anthracis*

Generalidades:

- Las muestras nasales sólo deben ser usadas para estudios epidemiológicos en los que hubo una exposición confirmada a *Bacillus anthracis*. No se recomienda utilizar la coloración de Gram.

Materiales

- Hisopos de dacrón, rayón u otro material sintético; no se recomienda utilizar hisopos con punta de algodón.
- Medios de transporte para cultivo.

Procedimiento

- Humedecer el hisopo en solución salina o agua destilada e introducir por lo menos un centímetro dentro de la nariz.
- Obtener la muestra rotando el hisopo y dejándolo en la nariz de 10 a 15 segundos.
- Retirar el hisopo, colocarlo en el medio de transporte y enviarlo al laboratorio.
- Identificar la muestra e indicar, en lo posible, el grado de exposición.
- Transportarlo al laboratorio tan pronto como sea posible, no refrigerar la muestra.
- En el laboratorio, sacar el hisopo y colocarlo en un tubo que contenga 1,5 mL de solución salina estéril o un caldo nutritivo como caldo tripticosa soya, infusión cerebro/corazón o un equivalente. Rotar vigorosamente el hisopo y volver a tapar el tubo.
- Colocar el tubo en baño maría a 65 °C por 30 minutos y luego sembrar 100 a 200 µl del caldo en placas de ASC e incubar a 35-37 °C por 18 a 24 horas.
- *Bacillus anthracis* puede crecer en 12 a 18 horas, observar las características e identificar como se ha descrito anteriormente.
- Se pueden sembrar las muestras directamente en placas de agar sangre, sin embargo la flora nasal normal puede impedir aislar *Bacillus anthracis* cuando exista poca cantidad de éste.

Limitaciones

- Este procedimiento para evaluar la presencia de *Bacillus anthracis* no ha sido evaluado para determinar su sensibilidad o especificidad. Por lo que sus resultados, sobre todo los negativos, deben ser interpretados con cautela.
- No se recomienda obtener muestras nasofaríngeas o faríngeas; tampoco se recomienda realizar hisopados nasales en personas asintomáticas y sin riesgo de exposición.
- No se recomienda este método en pacientes sintomáticos, en los cuales se deben tomar las muestras apropiadas.

2. PRUEBAS SEROLÓGICAS E INMUNOLÓGICAS

Las principales proteínas inmunogénicas del *Bacillus anthracis* están conformadas por los antígenos capsulares y los componentes de las exotoxinas. La determinación mediante técnicas de ELISA de un aumento de cuatro veces el valor de los anticuerpos contra alguno de los componentes de los bacilos, es diagnóstico de infección pasada o vacunación.

Los indicadores más confiables para el diagnóstico son los títulos de anticuerpos contra los antígenos protectores y a los componentes de la cápsula.

En estudios realizados para determinar la sensibilidad diagnóstica de la técnica ELISA según el antígeno de *Bacillus anthracis* usado se encuentra una sensibilidad de 72% para los antígenos protectores, 95 a 100% para los antígenos de la cápsula, 42% para el factor letal y 26% para el factor de edema.

La hemaglutinación indirecta brinda resultados similares a los obtenidos con ELISA pero tiene ciertos límites, incluyendo el tiempo de vida media de los antígenos que son sensibilizados en preparaciones de glóbulos rojos, limitada reproducibilidad de la prueba y largos períodos requeridos para su preparación.

Es posible realizar la detección inmunológica de las exotoxinas en sangre durante infección sistémica, cuando se dispone de anticuerpos para toxinas de ántrax, sin embargo estas pruebas no son indicadas para realizar el diagnóstico; aunque son de valor epidemiológico, éstas tienen poco valor diagnóstico en la enfermedad aguda.

Durante infecciones sistémicas, los anticuerpos dirigidos a las toxinas o los componentes capsulares no pueden ser detectados hasta después de iniciada la enfermedad, muchas veces cuando es demasiado tarde para iniciar el tratamiento.

La prueba dérmica-antraxina, desarrollada inicialmente por la Unión Soviética, consiste en la inyección subdérmica de un extracto químico comercial de una cepa atenuada de *Bacillus anthracis* el cual está disponible para el diagnóstico de casos agudos y pasados. En un estudio de pruebas dérmicas se logró diagnosticar 82% de los casos entre uno y tres días luego del inicio de los síntomas y en 99% de los casos hacia el final de la cuarta semana. Así esta prueba puede ser usada para el diagnóstico de casos agudos y análisis retrospectivos de casos de ántrax.

Métodos moleculares

Nuevas técnicas para el diagnóstico de ántrax se han enfocado en el uso de la reacción de cadena de polimerasa (PCR) amplifica marcadores específicos de *Bacillus anthracis* o del grupo de *Bacillus cereus*. Dos marcadores, *vrrA* and *Ba813*, han sido sujetos de amplios estudios. También se ha usado el PCR para amplificar marcadores específicos de plásmidos de virulencia que están presentes en diferentes cepas de ántrax que están en estudio. Estos nuevos métodos rápidos pueden ser de gran utilidad para el manejo clínico de los pacientes donde tener un diagnóstico temprano es crucial.

ÁNTRAX EN EL HOMBRE

El período de incubación es de dos a cinco días. Se distinguen tres formas clínicas: cutánea, pulmonar y gastrointestinal, de las cuales la cutánea es la más común.

El carbunco cutáneo se origina por contacto con animales infectados, lana, cueros o cuando se troza un animal infectado. Una herida de la piel favorece la transmisión. La lesión inicial es una vesícula en el sitio de la inoculación que evoluciona hacia la formación de una escara negra y deprimida. Generalmente la lesión cutánea es poco o nada dolorosa. Si el paciente no es tratado la infección puede progresar hasta producir septicemia y la muerte.

La forma pulmonar es contraída por inhalación de esporas de *Bacillus anthracis*. Al principio de la enfermedad la sintomatología es leve y semejante a la de una infección común de las vías respiratorias superiores. Los síntomas respiratorios se agudizan durante un período de tres a cinco días con fiebre, *shock* y muerte. La letalidad es alta.

El carbunco gastrointestinal se produce por ingestión de carnes contaminadas y se manifiesta por una violenta gastroenteritis con vómitos y deposiciones hemorrágicas. La letalidad es alta.

Ocurren situaciones de riesgo en que pueden estar expuestos individuos comprometidos en diagnóstico o actividades de investigación al entrar en contacto con esporas del ántrax, entre ellos los veterinarios, empleados de laboratorios y el personal militar destinado a áreas con alto riesgo a la exposición al organismo (como cuando se usa como una arma de guerra biológica).

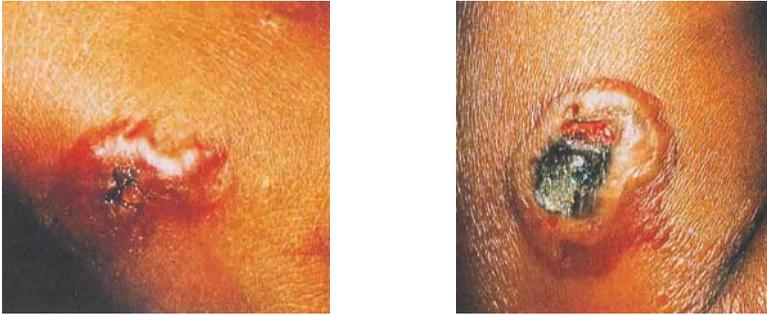


Figura 13. La lesión inicial es una vesícula en el sitio de la inoculación que evoluciona hacia la formación de una escara negra y deprimida.



Figura 14. Generalmente la lesión cutánea es poco o nada dolorosa. Si el paciente no es tratado la infección puede progresar hasta producir septicemia y muerte.

CARBUNCO O ÁNTRAX EN ANIMALES

El carbunco o ántrax es una enfermedad zoonótica bacteriana aguda, causada por esporas de *Bacillus anthracis*. Su nombre deriva del término griego *anthrakís*, que significa carbón, de allí el nombre de fiebre carbonosa. El ántrax es principalmente una enfermedad de herbívoros, ocurre más comúnmente en los mamíferos con pezuñas, ganado bovino, ovino, caprino, búfalos y cerdos.

La ocurrencia en el hombre es generalmente ocupacional, por contacto directo a través de productos de origen animal. El control del carbunco se basa en la prevención por medio de la vacunación continua del ganado en áreas de suelo contaminado.

En la mayoría de los países el carbunco es una enfermedad notificable. La vigilancia es importante para evaluar los programas de control.

Se presenta en forma sobreaguda, aguda y crónica. La forma sobreaguda ocurre en vacunos, ovinos y caprinos, la presentación es brusca y el curso rápidamente mortal. La forma aguda se observa en bovinos, equinos y ovinos, con cierta frecuencia se aprecian descargas sanguinolentas por aberturas naturales, edema, convulsiones y muerte. La forma crónica se presenta en especies menos susceptibles, como el cerdo y el perro. El carbunco ocurre también en animales silvestres, animales de zoológicos y parques nacionales.



Figura 15. Las enfermedades que afectan a los animales son una permanente amenaza para la salud pública y producción pecuaria, por ello se realizan grandes esfuerzos para combatirlas.

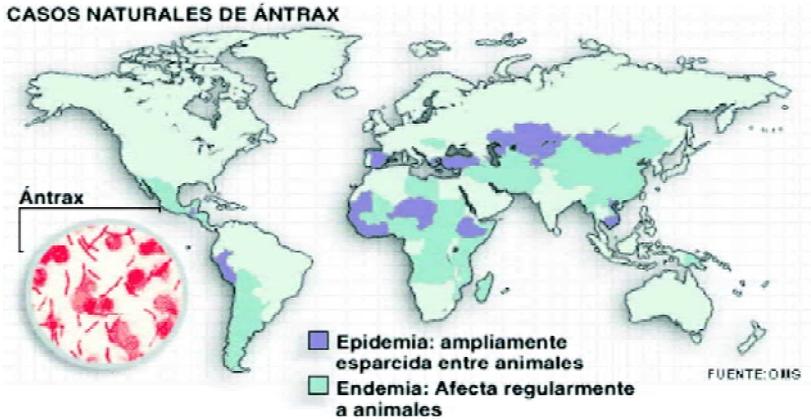


Figura 16. En regiones donde se han establecido programas intensivos de vacunación del ganado se ha reducido notablemente la ocurrencia de la enfermedad, tanto en animales como en el hombre. Muchos de los brotes en la actualidad ocurren en áreas donde no se han implementado programas de vacunación ininterrumpida.



Figura 17. La enfermedad, que algunas veces se manifiesta a través de inestabilidad, hemorragias, convulsiones, y asfixia, puede ser mortal casi de forma inmediata en los casos agudos, y en un período de tres a cinco días en los subagudos. La muerte se produce por toxemia. Las vacunaciones preestacionales y los antibióticos son eficaces para la prevención de la enfermedad.

Confirmada la enfermedad por el diagnóstico del laboratorio, se procede en el caso de enfermedades cuarentenables (fiebre aftosa, ántrax, cólera porcino, etc.) a declarar la zona afectada en cuarentena temporal, tomando las medidas de prevención y control necesarias.

La habilidad del *B. anthracis* para causar enfermedad depende principalmente de la concentración de la exposición, de la vía de infección y del órgano afectado. La forma vegetativa o bacilo produce un potente complejo tóxico que causa alteraciones irreversibles en diversos tejidos de animales y del hombre.

Este microorganismo es capaz de sobrevivir más de 25 años en el suelo o agua en su forma de resistencia (espora). Esta característica, junto con su letalidad, rapidez de acción y facilidad de cultivo, lo convierten, en el agente patógeno con más probabilidades de ser utilizado con fines terroristas, ya que provoca la muerte, si se inhala, en el 90% de los casos.



Figura 18. El ántrax ocurre en vacunos, ovinos y caprinos, la presentación es brusca y el curso rápidamente mortal. La forma aguda se observa en bovinos, equinos y ovinos; con cierta frecuencia se aprecian descargas sanguinolentas por aberturas naturales, edema, convulsiones y muerte.

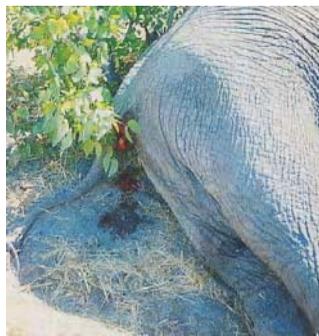


Figura 19. El carbunco ocurre también en animales silvestres, en animales de zoológicos y de parques nacionales.

SITUACIÓN ZOOSANITARIA DEL CARBUNCO O ÁNTRAX EN EL PERÚ

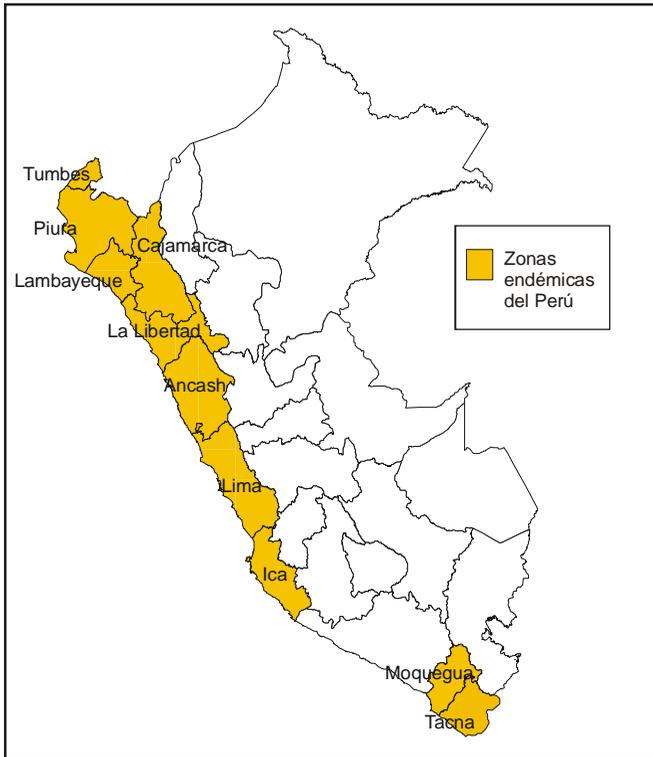


Figura 20. El carbunco o ántrax es endémico en la región de la costa, siendo los departamentos de Lima, Ica, La Libertad, Lambayeque, Piura, Tumbes, Ancash, Cajamarca, Moquegua y Tacna, los que han informado ocurrencias de esta enfermedad en sus jurisdicciones.

La vacunación de especies susceptibles contra el carbunco se realiza en la mayoría de los departamentos costeros en las campañas de vacunación realizadas por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) aplicando productos biológicos registrados y autorizados.

Acorde con las disposiciones de la OIE (Organismo Internacional de Epizootias), en el país existe la obligatoriedad de la denuncia de enfermedades, La Ley Marco de Sanidad Agraria N° 27322, establece la obligatoriedad de la denuncia de enfermedades de los animales y la R.J. N° 099-2002-AG-SENASA, aprueba la Lista de enfermedades de notificación obligatoria.

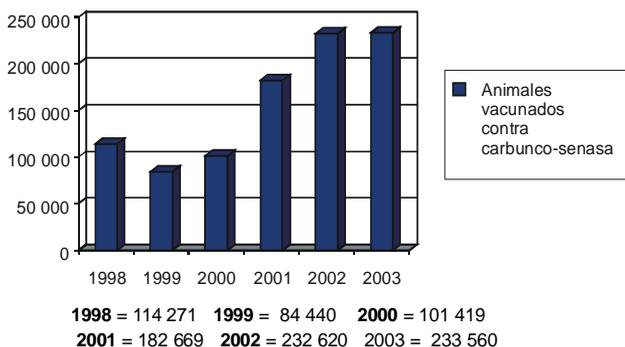


Gráfico 2. Animales vacunados entre los años 1998 a 2003 por SENASA.

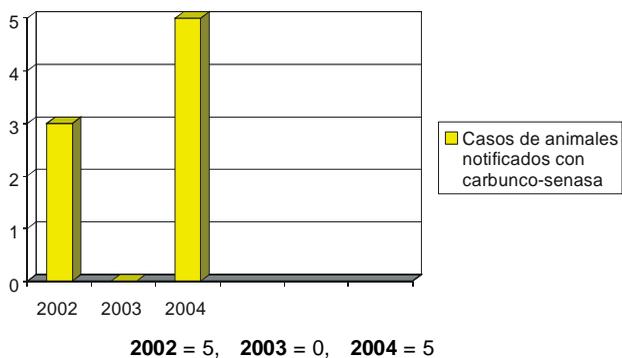


Gráfico 3. Casos notificados de animales con carbunco por SENASA.

Educación sanitaria

Es recomendable impartir charlas de capacitación por parte de los especialistas en medicina veterinaria a profesionales, técnicos, ganaderos y demás personas inmersas en la actividad pecuaria, con el fin de incorporarlos dentro del sistema de vigilancia.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Eliminación de cadáveres infectados

Debido a que el *Bacillus anthracis* requiere de O₂ para esporular, se prohíbe el examen postmortem de los cadáveres de los animales muertos por ántrax.

Las formas vegetativas contenidas en el cadáver mueren en unos pocos días por el proceso de putrefacción. El método preferido de eliminación del cadáver es la incineración; de no ser posible debe ser enterrado a dos metros de profundidad con cal viva. Este método no es totalmente confiable para eliminar la presencia de esporas, ya que éstas se han encontrado en el lugar del entierro muchos años después. Probablemente son removidas a la superficie por actividades como el arado, drenajes o excavaciones. Por ello la incineración es el procedimiento recomendado.

Idealmente, el suelo que se encuentra circundante y debajo del cadáver, particularmente alrededor de la región nasal y anal en cuyas secreciones es posible encontrar el bacilo, deben ser descontaminadas y luego incineradas. El tratamiento con calor controlado es una alternativa, la cual consiste en un proceso de cocimiento resultando en esterilización de materiales crudos de origen animal. De esta manera, partes del cadáver pueden ser utilizadas posteriormente con propósitos comerciales.

Control de la infección en el manejo de casos humanos de ántrax

Las lesiones cutáneas de ántrax deben ser cubiertas durante las primeras 24 a 48 horas después de iniciado el tratamiento. Se debe usar guantes para la manipulación de la herida y durante la eliminación de especímenes contaminados o la esterilización de materiales y equipos.

Profilaxis con antibióticos o vacunas no son necesarias para el personal de salud o para los contactos en la familia.

En los casos fatales, la cremación es preferible al entierro. El cuerpo debe ser colocado en una bolsa impermeable para su transporte y ya no debe ser extraído de la bolsa.

Desinfección, descontaminación y eliminación de material contaminado o infectado

1. El guano, el alimento de los animales y el lugar donde dormían deben ser incinerados o autoclavados (121 ± 1 °C por 30 minutos). La inmersión en formaldehído al 4% (formalina al 10%) por 12 horas puede ser una opción, pero la penetración completa de los fluidos debe ser asegurada.
2. Desinfección de superficies en cuartos, casas de animales, vehículos, etc.
 - Desinfección preliminar. Se puede usar alguno de los desinfectantes en cantidades de 1 - 1,5 litros por m² con un tiempo de exposición de dos horas:
 - Formaldehído 10% (aproximadamente formalina 30%).
 - Glutaraldehído 4% (pH 8,0 - 8,5).
 - Limpieza. Todas las superficies deben ser lavadas y escobilladas con abundante agua caliente. El operador debe usar ropa que lo proteja e incluso los guantes y la cara deben ser protegidos. La limpieza debe ser hecha hasta que las superficies recuperen sus colores originales y el agua quede libre de partículas de suciedad.
 - Desinfección final. Debe usarse alguno de los siguientes en una proporción de 0,4 litros por m² por un tiempo de exposición de dos horas:
 - Formaldehído 10% (aproximadamente formalina 30%).
 - Glutaraldehído 4% (pH 8,0 – 8,5).
 - Peróxido de hidrógeno 3%.
 - Ácido peracético 1%.

El peróxido de hidrógeno y el ácido peracético no son apropiados si hay presencia de sangre. Cuando se usa glutaraldehído, peróxido de hidrógeno o ácido peracético, las superficies deben ser tratadas dos veces con un intervalo de al menos una hora. Formaldehído y glutaraldehído no deben ser usados a temperaturas debajo de 10 °C. Después de la desinfección final, los espacios cerrados deben estar bien ventilados.
3. Fumigación. Los laboratorios pueden ser fumigados con cuatro litros de agua conteniendo (400 mL) de formalina concentrada.

4. Accidentes en el laboratorio. Material de uso frecuente como pipetas, láminas, etc., deben ser sumergidas en soluciones de hipoclorito con 10 000 ppm y luego transferidas a una bolsa para autoclavarlas o incinerarlas. Las salpicaduras en el piso, asientos o aparatos deben ser cubiertas por soluciones de hipoclorito con 10 000 ppm y las superficies verticales deben ser lavadas con esta solución. Deben usarse en el laboratorio mandiles descartables, dada la posibilidad de salpicaduras en las ropas. En caso de producirse salpicaduras en la piel, ésta debe ser lavada con solución de hipoclorito con 5000 ppm durante un minuto y luego lavado con agua y jabón. En el caso de un accidente percutáneo debe estimularse el sangrado de la zona afectada y lavar con abundante agua. Si cayera una salpicadura en el ojo, éste debe ser lavado con bastante agua y no debe friccionarse. De producirse una contaminación de la boca, el trabajador debe escupir y lavarse la boca con solución de hipoclorito con 2000 ppm; posteriormente debe enjuagarse la boca varias veces con agua.
5. Tratamiento del suelo. Si es posible, el suelo donde ha estado el cadáver debe ser removido hasta una profundidad de 20 cm e incinerado o tratado con calor (121 °C por 20 minutos). Si no es posible, debe ser desinfectado con 50 litros de formaldehído 5% por m². Otra alternativa es cubrir el suelo con concreto o alquitrán.
6. Otros materiales. Todos los materiales contaminados deben ser incinerados o autoclavados a 121 °C por 30 minutos. De no ser posible como en el caso de ropas, botas, herramientas, etc., deben ser puestas en bolsas para autoclavar, refregadas y luego sumergidas en formaldehído 4% o glutaraldehído 2%.



Figura 21. Las figuras muestran la incineración de la carcasa de animales muertos de ántrax. Nótese el uso de una bolsa en la cabeza del animal para prevenir los fluidos sanguíneos de orificios naturales y evitar la propagación de la enfermedad.



Figura 22. Los animales muertos deben ser incinerados o enterrados a dos metros de profundidad y cubiertos con cal. Todo el material expuesto a los animales enfermos debe desinfectarse.

VACUNA

Esta vacuna usa la cepa *Bacillus anthracis* 34F2, toxigénica, no encapsulada. La aplicación de esta vacuna confiere un efecto protector por un año. Se requiere dosis de refuerzo anuales en el ganado. La vacuna parece tener algún grado de virulencia para las cabras cuando están inmunodeprimidas por parasitosis o caquéticas.

La inmunidad que protege contra el desarrollo de la enfermedad está dirigida al factor antígeno protector. La inmunidad contra los otros dos antígenos, factor letal y factor edema, no confiere protección significativa.

Las vacunas compuestas del bacilo muerto o los antígenos capsulares no producen inmunidad. La cadena externa de *B. anthracis* produce cantidades subletales de la toxina que induce la formación del anticuerpo proteccionista.

Las vacunas humanas contra el ántrax fueron desarrolladas en la Unión Soviética en la década de 1940, mientras que en los Estados Unidos y Gran Bretaña se desarrolló en los años 50. La vacuna actual usada en EE. UU. fue formulada en 1960 y obtuvo licencia por la FDA en 1970 (dos años antes que los datos sobre eficacia fueran requeridos para la licencia).

Rusia y China usan cepas atenuadas, éstas pueden ser en forma de aerosol, escarificación o inyección subcutánea.

Actualmente se reconoce que la eficacia de la vacuna es controversial, así mismo la CDC refiere que aunque la actual vacuna ha mostrado efectividad en prevención de las formas cutáneas de esta enfermedad en humanos, deben ser conscientes que no se cuentan con datos definitivos que demuestren la eficacia de esta vacuna en humanos expuestos a cepas de *Bacillus anthracis* genéticamente modificados.

La inmunidad que impide el desarrollo de la enfermedad está dirigida contra el antígeno protector. La inmunidad contra los otros dos antígenos (factor letal y factor edema) no confiere protección significativa.

Vacuna animal. Esta vacuna usa la cepa de *Bacillus anthracis* 34F2, toxigénica, no encapsulada. Una aplicación de esta vacuna confiere un efecto protector de un año. Se requiere dosis de refuerzo anuales para el ganado. La vacuna parece tener algún grado de virulencia para las cabras.

Vacuna en humanos. En 1954 se desarrolló la vacuna para humanos a partir de un filtrado libre de células de un cultivo aeróbico precipitado en

sulfato de potasio aluminio. Fue probada en monos, mostró pocas reacciones adversas y fue usada en el único estudio hecho sobre eficacia en humanos. Durante 1957-1960 se realizaron tres mejoras: se empezó a utilizar una cepa productora en mayor proporción del antígeno protector, produciendo un medio libre de proteínas y cambiando el sulfato por el hidróxido de potasio. Recibe la denominación de vacuna absorbida para ántrax (AVA). La cepa utilizada es conocida como V770-Np1-R, la cual es toxigénica y no encapsulada. El esquema de vacunación es el siguiente:

- Tres dosis subcutáneas a las 0, 2 y 4 semanas.
- Dosis de refuerzo a los 6, 12 y 18 meses.
- Dosis de refuerzo anual.

La eficacia de la vacuna es desarrollar una respuesta inmune. Mediante la prueba de hemoaglutinación, se mostró una seroconversión de 95% de los vacunados después de tres dosis. Un ensayo clínico mostró una protección de 92,5% para ántrax cutáneo e inhalatorio combinado. La duración de la eficacia en humanos es desconocida.

Las contraindicaciones son: historia de infección previa por ántrax o reacción anafiláctica por una dosis previa o por cualquiera de sus componentes. Mujeres embarazadas deben ser vacunadas contra ántrax sólo si el beneficio potencial de la vacunación es mayor que el riesgo potencial para el feto. No hay datos que sugieran un riesgo incrementado o eventos adversos relacionados temporalmente con la aplicación de la vacuna en madres que dan lactancia o en los lactantes.

Las reacciones adversas asociadas con la vacuna son las siguientes:

- Reacciones locales. Reacciones leves consisten de eritema más una ligera induración de 1 a 2 cm, en 30% de los vacunados. Reacciones moderadas (>5 cm de diámetro) ocurre en 4% de los vacunados con la segunda dosis. Reacciones locales más graves ocurren infrecuentemente y consisten de edema extenso del antebrazo, además de reacción inflamatoria local.
- Reacciones sistémicas. Ocurre en menos del 0,2% de los vacunados y se caracteriza por malestar general y lasitud, menos frecuentemente se observa fiebre y escalofríos.

Indicaciones de vacunación

1. Preexposición. Está indicada de manera rutinaria para personas que trabajan en la producción de cantidades o concentraciones de cultivos de *Bacillus anthracis* y en aquellos que desarrollan actividades con una alta producción de aerosoles. Laboratorios que trabajan procesando muestras clínicas con un nivel de bioseguridad 2, no tienen un riesgo incrementado. La vacunación podría estar indicada en veterinarios y otras personas en riesgo, que manipulan animales potencialmente infectados en áreas con una alta incidencia de ántrax. En los militares, como parte de una preparación para ataques bioterroristas, la vacunación puede estar indicada.
2. Postexposición. Sólo un estudio ha comparado el uso de antibióticos más vacuna con el uso de antibiótico solo, luego de una exposición a aerosoles. Este estudio no mostró diferencias significativas en la sobrevivencia de animales tratados con doxiciclina sola por 30 días comparados con aquellos que recibieron 30 días de doxiciclina más dos dosis de vacuna de ántrax postexposición. Sin embargo, el estudio sugiere un posible beneficio de la combinación de antibióticos más vacunación postexposición (véase tabla).

PAÍS	DESCRIPCIÓN	DOSIS
REINO UNIDO	Cepa 34F2 /precipitado en aluminio	Tres dosis de 0,5 mL IM con intervalos de tres semanas una cuarta dosis a los seis meses. Dosis de refuerzo 0,5 mL IM cada año.
CHINA	Suspensión de esporas vivas	Dosis única por escarificación en la piel de la cepa A16R 20 µL (aprox.).
RUSIA	Suspensión de esporas vivas de la cepa STI, Nikolai Ginsberg 1940	Dos dosis iniciales con intervalos de 21 días y dosis anuales de refuerzo, administración por escarificación en la piel de 10 - 20 µL ó 0,5 mL subcutáneo.
ESTADOS UNIDOS	Cepa V770 adsorbido en hidróxido de aluminio	Tres dosis subcutáneas con dos semanas de intervalo c/u, seguidas por tres inyecciones subcutáneas de 0,5 mL cada una a intervalos de 6, 12, y 18 meses, subsecuentes refuerzos anuales de 0,5 mL.

Fuente: WHO/EMC/ZDI/98.6 Guidelines for the surveillance and control of anthrax in human and animals. 3rd edition.

PRODUCCIÓN DE LA VACUNA CARBONOSA EN EL CNPB / INS

El Centro Nacional de Productos Biológicos tiene por finalidad la producción de la Vacuna Carbonosa cepa Sterne saponinada para abastecer la demanda nacional en las campañas de inmunización de ganado bovino, caprino, suino u ovino para el control y erradicación de la fiebre carbonosa.

Vacuna Carbonosa de *Bacillus anthracis* cepa Sterne saponinada

La vacuna es exclusiva de uso veterinario.

Composición

Se presenta en forma líquida, contiene 10 millones de esporas por dosis. La aplicación del biológico es subcutánea.

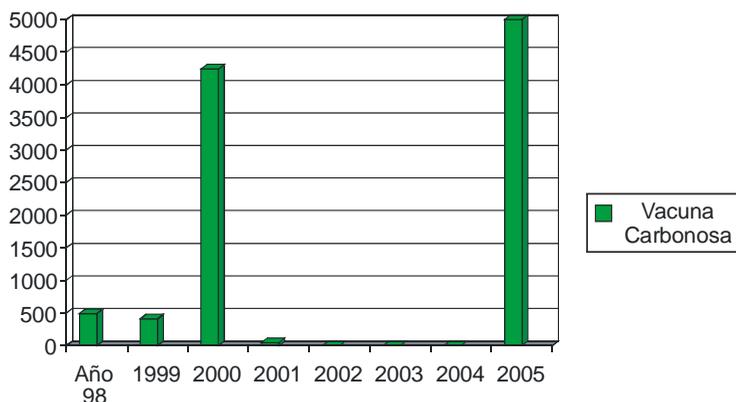


Gráfico 4. La misión del CNPB/INS es abastecer la demanda nacional de productos biológicos como ente de referencia en la elaboración de antígenos, vacunas, sueros, y reactivos.



Figura 23. La vacuna carbonosa de *Bacillus anthracis* cepa Sterne saponinada, contiene 10 millones de esporas por dosis, se usa en la inmunización de bovinos, caprinos, suinos u ovinos. La capacidad productiva por el método de fermentación es alta, aproximadamente 500,000 dosis en un biorreactor de 20 litros. Sistema capaz de abastecer la demanda del SENASA en los programas de vacunación a nivel nacional.

BIBLIOGRAFÍA

Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3a ed. Volumen III. OPS. 2003.

Instituto Nacional de Salud. La emergencia del ántrax como arma biológica. Documento Técnico N° 2 Enfermedades Emergentes y Reemergentes. 2001.

Ministerio de Agricultura de Perú. Servicio nacional de Sanidad Agraria. Sanidad animal, Programa zoonosario, prevención y control de enfermedades zoonóticas, vigilancia zoonosaria. Con acceso: Dic 2005. Disponible en:

http://www.senasa.gob.pe/sanidad_animal/programas_zoonosarios/pc_carbunco_sintomático/index.htm

Prochazka, L. Ántrax en el Perú: ¿Negligencia o Bioterrorismo? Con acceso: Dic 2005. Disponible en:

<http://www.medicina.usmp.edu.pe/000data/0articles/antrax.htm>

Salinas, D. Carbunco: una investigación clínica en los andes peruanos. An. Fac. Med., Oct./dic. 2004, vol. 65, n°. 4, p. 231-238. Con acceso: Set 2005.

Disponible en: http://www.senasa.gob.pe/influenza_aviar/Conferencia_Hemisferica_de_Influenza_AViar_en_Brasil/FAO/Programa_Global_para_el_control_progresivo_de_las_enfermedades_transfronterizas_de_los_animales.pdf

World Health Organization. Guidelines for the surveillance and control of anthrax in humans and animals. Department of Communicable Disease Surveillance and Response. Third edition. WHO. 1988.

CEPREDIM



SE TERMINÓ DE IMPRIMIR
EN EL MES DE DICIEMBRE DE 2005,
POR ENCARGO DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
EN LOS TALLERES GRÁFICOS DEL
CENTRO DE PRODUCCIÓN EDITORIAL E IMPRENTA DE
LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
JR. PARURO 119. LIMA 1. TELF.: 619-7000, ANEXOS: 6009, 6015
CORREO ELECTRÓNICO: CEPEDIT@UNMSM.EDU.PE
TIRAJE: 1000 EJEMPLARES