

Bioterrorismo e microrganismos patogênicos

Bioterrorism and pathogenic microorganisms

Hermann G. Schatzmayr
in memoriam

Ortrud Monika Barth

Pesquisadora do Laboratório de
Morfologia e Morfogênese Viral/
Instituto Oswaldo Cruz/Fundação
Oswaldo Cruz.
Av. Brasil, 4365/Pavilhão Hélio e
Peggy Pereira
21040-900 – Rio de Janeiro – RJ
– Brasil
barth@ioc.fiocruz.br

SCHATZMAYR, Hermann G.; BARTH, Ortrud Monika. Bioterrorismo e microrganismos patogênicos. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*, Rio de Janeiro, v.20, n.4, out.-dez. 2013, p.1735-1749.

Resumo

O uso de microrganismos patogênicos em atos de bioterrorismo é já há algum tempo objeto de grande preocupação em vários países. O presente trabalho apresenta a possível aplicação de vírus e bactérias para fins bélicos e terroristas, bem como o diagnóstico laboratorial para a identificação desses agentes. Foram salientados, entre outros, como agentes de infecções humanas visando o bioterrorismo, os vírus da varíola (ortopoxvírus), os de febres hemorrágicas e os pertencentes aos filovírus. Entre as bactérias foram destacadas as do antrax (*Bacillus anthracis*), da peste (*Yersinia pestis*), do botulismo (*Clostridium botulinum*) e da tularemia (*Francisella tularensis*), incluindo ainda a ricina (*Ricinus communis*) como componente do grupo B de agentes.

Palavras-chave: bioterrorismo; vírus; bactérias; diagnóstico laboratorial; vacina.

Abstract

In recent years the use of pathogenic microorganisms in acts of bioterrorism has been the subject of major concern in many countries. This paper presents a possible application of viruses and bacteria for warfare and terrorist purposes, as well as a laboratory diagnosis to identify those agents. The viruses of smallpox (orthopoxvirus), of hemorrhagic fever and those belonging to filovirus have been highlighted, inter alia, as agents of human infection with bioterrorist intent. Among the bacteria, the emphasis has been on anthrax (Bacillus anthracis), the plague (Yersinia pestis), botulism (Clostridium botulinum) and tularemia (Francisella tularensis), not to mention ricin (Ricinus communis), as one of the Group B agents.

Keywords: bioterrorism; viruses; bacteria; laboratory diagnosis; vaccine.

<http://dx.doi.org/10.1590/S0104-597020130005000016>

Apresentação

O uso de microrganismos patogênicos em atos de bioterrorismo tem preocupado cada vez mais nações em todos os continentes. O presente trabalho procurou expor as possíveis aplicações de vírus e bactérias com fins bélicos e terroristas, assim como as técnicas para o diagnóstico laboratorial desses agentes. O convite para a elaboração do texto a Hermann Gonçalves Schatzmayr, nome exponencial da virologia brasileira, e a sua esposa, Ortrud Monika Barth, virologista também da Fundação Oswaldo Cruz partiu, em junho de 2006, de Andrea Martiny, então bolsista no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto Militar de Engenharia, em nome da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise (SBMM) e da Rede Pólvora. Esta foi criada em 2001, por iniciativa de Wanderley de Souza, membro fundador da SBMM, então secretário de Ciência e Tecnologia do Estado do Rio de Janeiro, visando maior integração entre os mundos acadêmico e pericial. O livro seria lançado no XXI Congresso da SBMM, a realizar-se em Búzios (RJ), em agosto de 2007, teria como título *Microscopia forense: aplicações para o estudo de evidências*, e como objetivo, mostrar as aplicações das diversas técnicas de microscopia no mundo pericial. Hermann Schatzmayr faleceu em 21 de junho de 2010 sem que o livro fosse concretizado. Em homenagem a ele, publicamos o texto inconcluso e inédito, uma vez que pode ser útil não apenas àqueles que manejam técnicas de laboratório, mas também aos cientistas sociais interessados em conhecer práticas e microrganismos que representam ameaças latentes à sobrevivência de humanos e outros seres vivos.

A trajetória de Hermann Gonçalves Schatzmayr confunde-se com a da própria virologia brasileira.¹ Filho único de um relojoeiro austríaco e de uma descendente de portugueses nascida no Espírito Santo, Hermann Schatzmayr (1936-2010) graduou-se em 1957 em medicina veterinária na Universidade Rural do Rio de Janeiro (hoje Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro). Começou a estudar medicina na Escola de Medicina e Cirurgia do Rio de Janeiro, atual Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UniRio), mas logo descobriu que sua vocação era a pesquisa em laboratório. Matriculou-se no curso de microbiologia ministrado por Paulo de Góis na Universidade do Brasil, atual Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e durante um ano frequentou as aulas na praia Vermelha. Trabalhou lá por mais um ano, como bolsista, num laboratório da universidade em que teve a oportunidade de estudar a epidemia de influenza que grassou no Rio de Janeiro em 1957-1958.

Hermann conseguiu então uma bolsa para estagiar no Instituto de Higiene da Universidade de Viena e lá estudou o vírus de encefalite do carrapato.

De volta ao Brasil, no início da década de 1960, retomou as atividades na UFRJ, mas logo surgiu a oportunidade de ingressar no Instituto Oswaldo Cruz (IOC). Joaquim Travassos da Rosa, seu diretor, com o apoio da Organização Mundial da Saúde (OMS), montava um laboratório de poliomielite, de cuja equipe Hermann passou a fazer parte a partir de junho

¹ Esta sucinta biografia baseia-se em texto de Fernanda Marques, "Hermann Schatzmayr", disponível em <http://www.agencia.fiocruz.br/hermann-schatzmayr>. Ver também Hermann G. Schatzmayr, "Novas perspectivas em vacinas virais" (*História, Ciências, Saúde-Manguinhos*, Rio de Janeiro, v.10, supl.2, p.655-669, 2003). Ver ainda depoimento de Hermann Schatzmayr sob a guarda da Casa de Oswaldo Cruz, Departamento de Arquivo e Documentação, acervo de "História da poliomielite e de sua erradicação no Brasil".

de 1961. Trabalhou no isolamento e identificação do vírus da pólio, na investigação de surtos e da resposta à vacina oral Sabin, que começava a ser usada no Brasil.

Em 1965, Hermann casou-se com Ortrud Monika Barth, nascida na Alemanha e naturalizada brasileira, pesquisadora também do IOC, onde trabalhava seu pai, Rudolf Barth, renomado zoólogo. Monika e Hermann viajaram para a Alemanha, ela com bolsa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ele, da Fundação Humboldt. Hermann defendeu tese sobre anticorpos naturais contra poliomielite às vésperas da viagem de volta ao Brasil, em 1966.

No IOC, trabalhou na produção da vacina contra a varíola. Frequentou um curso oferecido pela Organização Pan-americana da Saúde (Opas), em São Paulo, e recebeu treinamento nos EUA para em seguida organizar, na Escola Nacional de Saúde Pública (Ensp), um laboratório dedicado à varíola, que funcionou até meados da década de 1970. Fazia parte do esforço global para a erradicação da doença. Naquele laboratório foi isolado o vírus dos últimos casos nas Américas, detectados no Rio de Janeiro, em 1971.

Em 1967, Hermann recebeu convite da Ensp para montar também um laboratório de poliomielite no âmbito do Departamento de Ciências Biológicas em formação, no qual trabalhou durante dez anos. De sua equipe fez parte Akira Homma, que viria a assumir a direção do Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Biomanguinhos).

Em meados da década de 1970, o presidente da recém-fundada Fundação Oswaldo Cruz pediu a Hermann que planejasse Biomanguinhos, de maneira a unificar e modernizar a produção de vacinas, feitas até então em diversos laboratórios do IOC, agora uma das unidades da Fundação, ao lado de outros órgão do Ministério da Saúde a ela agregados. Hermann foi incumbido também de criar no IOC um Departamento de Virologia, que chefiou durante quase trinta anos. Aí formou pesquisadores que se dedicariam ao estudo de doenças como poliomielite, hepatites virais, dengue, febre amarela, diarreias virais, sarampo, rubéola, influenza e enteroviroses. O grupo foi um dos principais protagonistas da fundação, em 1986, da Sociedade Brasileira de Virologia, da qual Hermann foi o primeiro presidente.

Ele participou ativamente do esforço para erradicar também a poliomielite, que ganhou novo impulso quando se adotou a ideia de João Baptista Risi de vacinar toda a população num mesmo dia com a vacina Sabin, feita com vírus vivo inativado. A Hermann coube coordenar as atividades laboratoriais, que incluíam diagnóstico e vigilância. Formou-se uma rede de laboratórios regionais articulados ao laboratório da Fiocruz, em que Hermann e Akira foram pioneiros na implantação no Brasil das pesquisas sobre o vírus da pólio na água. Mostraram que os esgotos apresentavam altos níveis de vírus vacinal após o Dia Nacional de Vacinação contra a Poliomielite. Encontraram também vírus selvagem nas águas da baía de Santos, da baía de Guanabara e de várias praias do Rio de Janeiro, o que reforçava a importância da campanha de vacinação.

Nesse ínterim, Hermann Schatzmayr acompanhava o aumento da população de *Aedes aegypti* no Brasil e o avanço dos casos de dengue do Caribe em direção à América do Sul. Em 1985, uma pesquisadora de sua equipe viajou à Venezuela para participar de um curso de diagnóstico laboratorial de dengue oferecido pela Opas. Em 21 de abril de 1986, Rita Nogueira e Hermann comunicaram ao Ministério da Saúde a detecção dos primeiros casos



Hermann Schatzmayr em maio de 2005
Foto: Fernando Vasconcelos

de dengue 1 no Rio de Janeiro. A epidemia teve início no Sudeste brasileiro, naquele ano, disseminando-se pelo país. Sob a liderança de Hermann Schatzmayr, começou a operar uma rede nacional de laboratórios para o diagnóstico da dengue.

No início dos anos 1980, o virologista da Fiocruz passou a integrar um grupo assessor da OMS voltado para as diarreias virais. Hermann envolveu-se depois com outra frente da OMS, a Children Vaccine Initiative (CVI), em que trabalhou de 1990 a 1995. Em 1992, começou a atuar no grupo formado para analisar se deviam ou não ser destruídas as últimas amostras do vírus da varíola. Essa experiência levou Hermann a se interessar pelo tema da biossegurança, tendo ele presidido a Comissão Técnica de Biossegurança (CTBio) da Fiocruz e integrado, em Brasília, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) do Ministério da Ciência e Tecnologia.

Em junho de 1990, no governo Collor, foi nomeado presidente da Fiocruz, em meio a um impasse: os três nomes mais votados pelos cientistas da instituição tinham sido recusados pelo ministro da Saúde. Substituído o ministro, Hermann colocou o cargo à disposição, mas o novo titular da pasta da Saúde pediu que ficasse. Em 1992, houve outra troca de minist-

tro que cedeu à pressão para que a eleição interna fosse respeitada, eleição apoiada pelo próprio Hermann. O virologista reassumiu, então, a chefia do Departamento de Virologia do IOC, cargo que exerceu até 2005, permanecendo, porém, até sua morte, em 2010, à frente dos estudos sobre os poxvírus e o vírus da dengue.

Jaime L. Benchimol



A introdução de material biológico em determinada área com a finalidade de causar a disseminação de doenças ou inviabilizar o uso de água ou alimentos por populações inimigas em conflitos armados é reconhecida e descrita desde muitos séculos. Assim, a contaminação de fontes de água por materiais em decomposição de origem animal ou mesmo humano e o lançamento, em cidades sitiadas, de corpos de indivíduos falecidos de doenças transmissíveis são documentados como práticas de guerra.

As armas biológicas, ao lado dos venenos químicos como gás mostarda e o sarin, constituem um grupo de ameaças de origem bioquímica que inclui as toxinas e os agentes de doenças graves.

Como exemplos podem ser citadas as toxinas botulínica e tetânica, os agentes de infecções como o vírus da varíola, *Bacillus anthracis* (antrax), *Yersinia pestis* (peste), *Clostridium botulinum*, *Francisella tularensis* (tularemia) e os vírus das febres hemorrágicas (filovírus e arnavírus). Esses agentes de infecções e produtos biológicos são classificados internacionalmente como grupo A, ou seja, de maior gravidade e maior risco de utilização em atividades ilícitas.

Outros de menor agressividade são classificados como grupo B, entre os quais se incluem os agentes da brucelose, febre maculosa, encefalite equina Venezuela, agentes de doenças diarreicas como salmonelas, calicivírus, bacilos da tuberculose resistentes a drogas e toxinas como a ricina obtida da mamona e a toxina entérica de estafilococos.

Existem provas irrefutáveis de que programas de desenvolvimento de armas biológicas foram executados em vários países desde o início do século passado, ao longo da chamada Guerra Fria e até muito recentemente, incluindo manipulações genéticas, com vistas à obtenção de microrganismos mais virulentos ou de mais fácil dispersão em áreas abertas. Uma dessas manipulações teria sido a combinação do vírus Ebola com vírus do grupo da varíola, tornando-o mais resistente e com maiores possibilidades de dispersão.

O programa de armas biológicas dos EUA foi suspenso em 1969-1970, porém, na então União Soviética, calcula-se que em torno de sessenta mil pessoas estiveram envolvidas em programas semelhantes, sendo usada uma ilha do lago Aral, no sul do país, para os testes de campo.

Nem todos os agentes biológicos são letais; de vários deles é esperada uma ação de incapacitação temporária de civis e militares, gerando efeito psicológico muito forte sobre as populações atingidas.

Para que um agente possa ser utilizado como arma biológica algumas questões são fundamentais:

- (1) o agente deve ser capaz de exercer de maneira consistente determinado efeito;
- (2) a dose necessária para produzir esse efeito deve ser baixa;
- (3) o período de incubação deve ser curto e bem definido;
- (4) a população-alvo não deve ter imunidade para o agente;
- (5) o tratamento dos indivíduos atingidos não deve estar facilmente disponível;
- (6) deve ser possível produzir o agente em grandes quantidades;
- (7) deve ser possível disseminar o agente de maneira eficiente;
- (8) o agente deve ser estável, de maneira a permitir sua guarda e seu transporte para as áreas de utilização.

Em termos de bioterrorismo com uso de agentes patogênicos três ações são preconizadas como essenciais para o controle desses agravos: (a) inicialmente, o rápido diagnóstico clínico presuntivo e sua confirmação laboratorial, (b) o tratamento imediato dos primeiros casos e (c) a utilização de vacinas, quando disponíveis, para a proteção das populações em contato com os primeiros casos.

A microscopia eletrônica tem aplicação no diagnóstico de vários grupos de agentes pelo exame direto de material do paciente. Nesse sentido, tem-se destacado o uso da técnica da contrastação negativa em microscopia eletrônica de transmissão (MET) (Figura 1). O exame direto de amostras biológicas sob forma de suspensões é rápido e preciso, e constitui o 'diagnóstico rápido'. A técnica depende primordialmente da concentração do agente presente na amostra e da densidade da suspensão, o que interfere em sua transparência sob o feixe eletrônico, podendo dificultar a visualização do agente.

O processamento básico na preparação de suspensões biológicas para o diagnóstico rápido consiste em colocar uma gota do material sobre uma grade de microscopia eletrônica revestida com Formvar ou colódio. Após trinta segundos, retira-se o excesso da gota com papel de filtro e, sem deixar secar a grade, pinga-se sobre ela uma gota de solução contrastante tendo como base um metal pesado como, por exemplo, o contrastante universal ácido fosfotúngstico (PTA a 2% em água destilada, pH neutro ou ligeiramente ácido ou básico, dependendo da suspensão a ser examinada). Após trinta segundos, retira-se o excesso da gota com uma tira de papel de filtro e, após secagem e inativação pela exposição à luz ultravioleta, observam-se as amostras em MET.

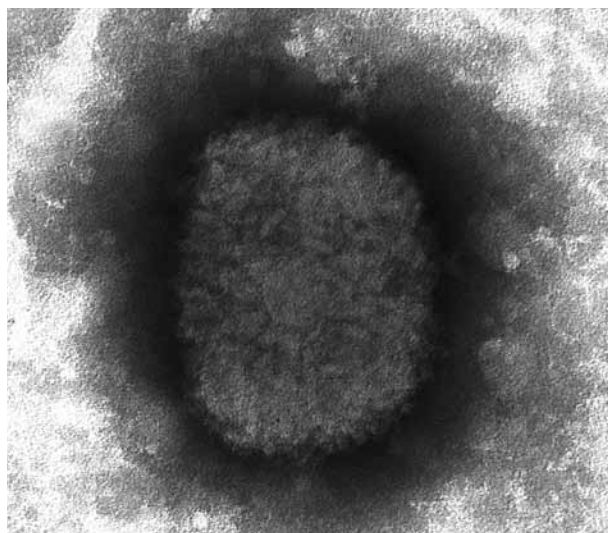


Figura 1: Ortopoxvírus, contrastação negativa de suspensão de macerado de crosta de animal bovino. A partícula viral é caracterizada por sua forma em tijolo e ornamentação de sua superfície por curtos filamentos proteicos localizados sem direcionamento preferencial

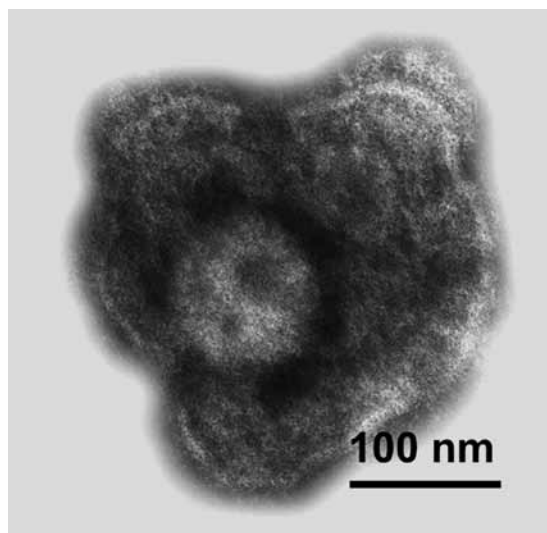


Figura 2: Ortopoxvírus, corte por célula Vero infectada experimentalmente. Notar os aglomerados escuros de partículas virais em formação no citoplasma celular

As preparações (grades) são observadas com aumento mínimo de vinte mil vezes para bactérias e filovírus, e de trinta mil vezes no caso de partículas virais. Fotomicrografias exigem aumento maior, principalmente no caso de agentes virais, inicialmente cinquenta mil vezes de aumento no microscópio eletrônico, em virtude da propriedade de maior resolução e definição das estruturas. Atualmente, a tendência é a obtenção de imagens digitais diretamente do microscópio eletrônico por meio do acoplamento de câmaras digitais de alta resolução e de elevado custo.

A aplicação dessa técnica possibilita a diferenciação entre agentes patológicos de estruturas muito semelhantes, como no caso dos ortopoxvírus e parapoxvírus (Figuras 1, 2 e 3), bem como entre efeitos citopáticos semelhantes causados por agentes bem diferentes, como no caso de varíola/vaccinia (ortopoxvírus) e varicela (herpesvírus) (Figuras 1 e 4).

A inclusão de material biológico em polímeros visando cortes ultrafinos a ser examinados em MET (Figura 2) constitui processamento que se estende por alguns dias. A possibilidade de visualizar um agente patogênico nessas preparações é, em muitos casos, menor do que no exame direto, devido à baixa concentração do agente e a formas incompletas do mesmo, de difícil reconhecimento

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) tem aplicação bastante limitada e não se destina a um diagnóstico de agente patológico.

Serão examinados em seguida os agentes de infecções do grupo A em relação a suas formas de agressão e seu diagnóstico laboratorial, visando estabelecer medidas adequadas de tratamento e controle.

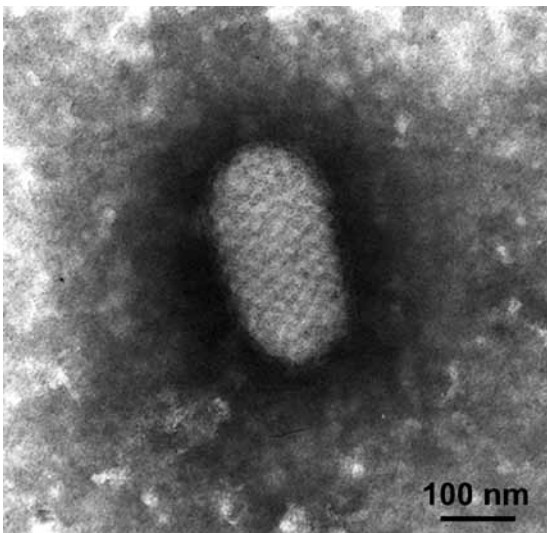


Figura 3: Parapoxvírus, contrastração negativa de suspensão de macerado de crosta de animal ovino. A partícula viral é caracterizada por sua forma alongada e ornamentação de sua superfície por longos filamentos proteicos dispostos em 'novelo de lã' (trançado), isto é, em camadas de direção oposta

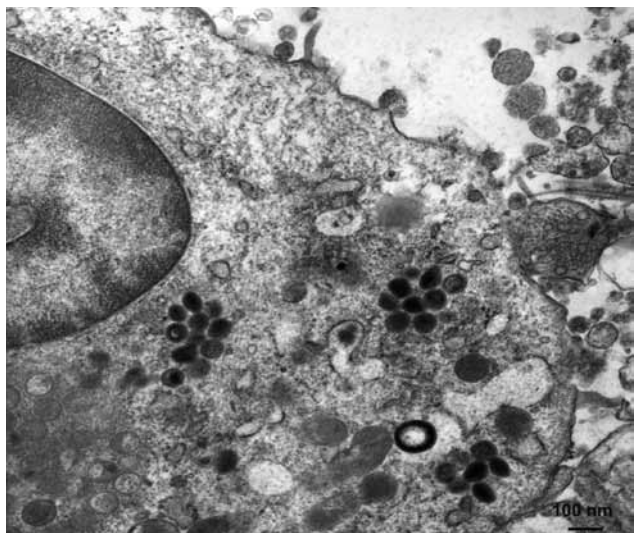


Figura 4: Vírus da varicela, família *Herpesviridae*, contrastração negativa de líquido vesicular humano. A partícula viral é caracterizada por sua forma irregular, arredondada, composta de um nucleocapsídeo icosaédrico (nas figuras apresenta-se quase esferoidal) e espesso envoltório pleomórfico

Varíola

O vírus, um *Orthopoxvirus* (Figuras 1 e 2) foi utilizado muitas vezes, também nas Américas, nas lutas dos colonizadores europeus contra os indígenas. Em realidade a doença era totalmente desconhecida no continente, embora existisse há séculos na Ásia, de onde foi levada para o Oriente Médio pelas caravanas de comércio, depois para a Europa, pelos cruzados.

Introduzido no nosso continente, causou grandes epidemias entre os nativos americanos, os quais não possuíam qualquer resistência ao vírus, com altas taxas de mortalidade. O vírus da varíola é bastante resistente quando dessecado em materiais retirados de lesões de pele, tornando possíveis seu transporte para regiões de conflito e sua disseminação na área. Exemplo bem conhecido é a conquista do México pelos espanhóis, quando sucessivos surtos de varíola foram induzidos entre os nativos através da contaminação de prisioneiros, que eram liberados após ser infectados.

Vírus da varíola foram também usados contra indígenas nos EUA por tropas inglesas, por meio de distribuição de roupas contaminadas aos nativos.² A doença acabou por espalhar-se sem controle por vastas regiões e tribos do oeste americano, alcançou a Califórnia e até o Alasca, e gerou graves e sucessivas epidemias.

Admite-se que poucas partículas por via respiratória são capazes de iniciar a infecção. A incubação da doença é longa, de sete a 14 dias, o que permite a vacinação de pessoas em torno do caso, reduzindo sua transmissão na área. As lesões na pele evoluem de vesículas a pústulas e a crostas, sendo o vírus encontrado todo o tempo nessas lesões.

Existiam duas apresentações clínicas do vírus da varíola, uma mais grave com taxa de mortalidade de até 40% (varíola maior), outra de muito menor gravidade (varíola menor ou alastrim), com mortalidade de 0,5 a 1%, a qual circulou nas Américas nos últimos anos antes da eliminação da doença em nível mundial.

Com a erradicação mundial alcançada em outubro de 1977, foi inicialmente decidida a destruição de todas as amostras do vírus existentes no mundo, porém os problemas da Guerra Fria e os riscos da utilização do vírus da varíola em ações de bioterrorismo bloquearam essa intenção. Até a presente data, em dois laboratórios de segurança máxima (nível 4) nos EUA e na Rússia, são mantidos estoques de vírus vivo. Uma comissão internacional da Organização Mundial de Saúde (OMS), da qual o primeiro dos autores é membro, avalia regularmente as pesquisas ainda necessárias para testar novas drogas no tratamento de eventuais pacientes, aperfeiçoar as vacinas existentes e desenvolver novos métodos laboratoriais de diagnóstico.

Os estoques remanescentes de vacina contra a varíola são atualmente reduzidos, e o aumento de seu estoque estratégico é considerado por alguns países importante prioridade. Uma droga denominada Cidofovir tem sido testada com bons resultados em macacos, porém sua eficácia no controle de casos humanos não é conhecida.

O diagnóstico laboratorial do vírus da varíola, um ortopoxvírus, devido a seu tamanho relativamente grande (250 a 300nm), pode ser realizado em poucas horas, examinando-se

² Essa prática criminosa também foi usada contra populações indígenas do Brasil até, pelo menos, os anos 1960. Veja a esse respeito, por exemplo, “Índios no Brasil foram vítimas de guerra bacteriológica!”. Notícia publicada em 8.11.2013, no site do Instituto Socioambiental, disponível em: <http://site-antigo.socioambiental.org/nsa/detalhe?id=64>. (N.E.)

ao microscópio eletrônico material obtido de vesículas, pústulas e crostas dos pacientes. A metodologia permite distinguir a varíola de infecções clinicamente semelhantes, como a catapora ou varicela, causadas por vírus do grupo herpes (Figuras 1 e 4).

Antrax

Logo após o ataque terrorista às torres em Nova York, em 2001, surgiram episódios de envio de esporos de *Bacillus anthracis* por via postal nos EUA, resultando em 22 casos suspeitos da doença e cinco mortos dos 11 casos em que houve infecção respiratória confirmada.

A bactéria desenvolve esporos que são formas de resistência, capazes de sobreviver por muitos meses e anos no ambiente. O *Bacillus anthracis* pode infectar o homem de três formas, por lesões na pele em que as bactérias podem se alojar, por via digestiva causando infecção gastrointestinal e por via respiratória, sendo esta a mais grave do ponto de vista do bioterrorismo. Infectados não diagnosticados e não tratados precocemente podem evoluir a óbito em 90% dos casos, em cerca de uma semana, com quadros de insuficiência respiratória aguda.

Dentro do organismo, os esporos voltam à forma bacteriana original, com enorme capacidade de reprodução, multiplicando-se em grande quantidade na corrente sanguínea e esgotando o oxigênio disponível no sangue. Quando preparadas sob a forma de esporos, as bactérias podem ser transportadas e distribuídas com facilidade por vários meios sem despertar suspeita, embora existam dificuldades tecnológicas importantes para a obtenção de suspensões uniformes de esporos, em alta concentração e pureza.

O antrax é igualmente capaz de causar quadros fatais em vários animais domésticos, os quais ingerem os esporos presentes no solo. A bactéria foi usada como arma biológica na guerra de 1914-1918 na Europa, quando foi lançada em áreas inimigas, nelas provocando contaminação extensa e de longa duração.

O diagnóstico laboratorial é obtido pela visualização direta dos bacilos no material suspeito (diagnóstico morfológico presuntivo), em microscopia fotônica, e confirmado por seu cultivo em laboratório.

Peste

O bacilo denominado *Yersinia pestis*, microrganismo que não forma esporos em seu ciclo evolutivo, é o agente da peste bubônica, doença que causou devastadoras epidemias na Ásia, Oriente Médio e Europa no século XIV, quando se calcula que entre 30 a 50% da população europeia tenha sido atingida.

Na ocasião a falta de higiene nos aglomerados urbanos e a perseguição aos gatos domésticos por razões de superstição religiosa facilitaram o grande aumento da população de ratos e, em consequência, de suas pulgas, transmissoras da doença. Essa foi a segunda grande epidemia de peste no mundo, tendo a primeira ocorrido ao redor do ano 540, quando causou igualmente grande mortalidade humana no norte da África, na Europa e na Ásia central e meridional.

Por não formar esporos, a bactéria é rapidamente destruída quando exposta à radiação solar, porém na natureza sobrevive vários dias nos animais infectados, na água e no solo úmido.

A doença se apresenta mais comumente sob a forma de lesões na pele, em consequência do edema e posterior destruição dos gânglios linfáticos, após a introdução dos bacilos pela picada da pulga infectada. A forma pulmonar, pela aspiração de aerossóis contendo a bactéria, é mais rara, porém casos humanos foram descritos repetidas vezes. Em pelo menos 15 deles, nos EUA, houve contato com gatos domésticos infectados com o bacilo, provavelmente originário de roedores silvestres.

A forma pulmonar é de evolução mais rápida, com taxas de letalidade em torno de 57%, contra cerca de 20% das demais formas, porque inclui os casos em geral tardiamente reconhecidos, quando o tratamento por antibióticos não é mais eficaz. Do ponto de vista do bioterrorismo, a infecção pulmonar seria a escolha para implantação do agente, uma vez que está comprovada a infecção de primatas não humanos por essa via.

Os sintomas se desenvolvem entre dois e oito dias após o contato com o agente. Nas duas formas ocorre a invasão de outros órgãos, como o sistema nervoso, gerando quadros de demência, bem como do sangue, podendo surgir gangrenas no nariz e nos dedos, o que explica a origem da expressão 'peste negra'. A forma pulmonar pode ocorrer também nos pacientes que inicialmente apresentaram lesões de pele.

Quadros causados por ataque biológico teriam evolução entre dois e quatro dias, segundo dados obtidos em primatas não humanos e nos casos fatais recentemente ocorridos nos EUA. O quadro é principalmente respiratório grave acompanhado de sintomas digestivos como náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreia, evoluindo a óbito também entre dois e quatro dias após o início dos sintomas.

Nas vacinas disponíveis eram de pouca eficácia na prevenção da forma pulmonar e não são mais utilizadas. Dados certamente incompletos indicam que ocorrem em média cerca de 1.700 casos humanos ao ano em todo o mundo, sendo 84% da forma bubônica, 13% da forma septicêmica, sem lesões de pele características, e 2% de formas pulmonares.

Atualmente existem alguns focos naturais de peste em roedores silvestres no sul da Rússia e outras áreas na Ásia, costa oeste dos EUA, em áreas limitadas da região serrana do estado do Rio de Janeiro e em Pernambuco. Na natureza, *Y. pestis* circula também em esquilos e cães selvagens, além das muitas espécies de roedores silvestres.

Nas condições atuais é muito pouco provável que surja outra grande epidemia no mundo, porém pulgas infectadas com *Y. pestis* foram lançadas na China por exércitos japoneses, no século passado, e grandes quantidades do agente foram preparadas dentro do programa de armas biológicas da União Soviética, confirmando que a peste deve ser mantida dentro da lista de possíveis agentes biológicos aplicáveis ao bioterrorismo, na categoria A.

O diagnóstico laboratorial é realizado pela identificação presuntiva por microscopia fotônica do bacilo em materiais obtidos das lesões de pele e secreções do paciente, porém o teste deve ser confirmado por outros procedimentos. O tempo necessário ao diagnóstico laboratorial final é de, no mínimo, 72 horas, o que pode ser crítico nos casos agudos. Técnicas moleculares que permitem diagnóstico mais rápido vêm sendo avaliadas nos últimos anos.

O tratamento do caso suspeito, por antibióticos, deve ser iniciado muito precocemente, sob risco de o quadro evoluir a óbito em poucas horas pela disseminação do agente nos órgãos internos do paciente.

Toxina botulínica

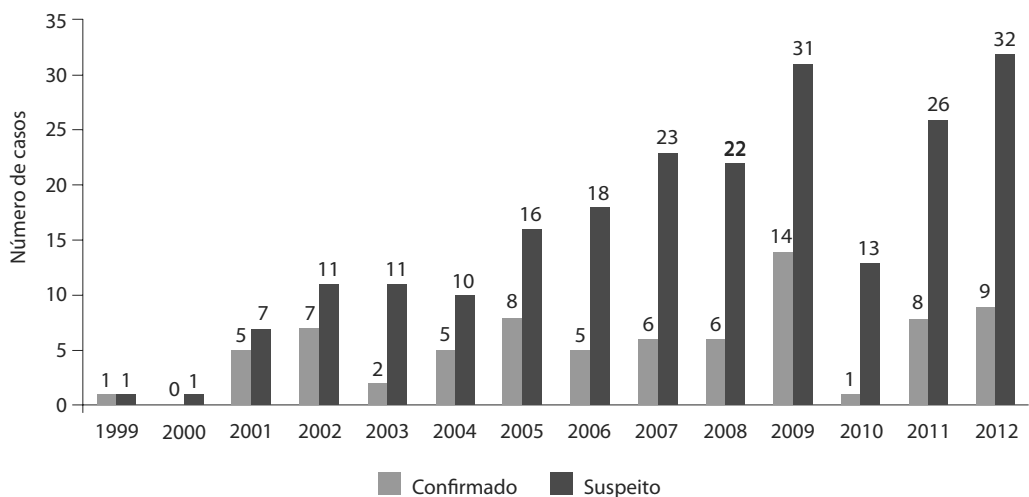
A bactéria *Clostridium botulinum* produz uma potente toxina, sendo considerada a mais tóxica substância biológica natural conhecida para o homem. Calcula-se que um grama poderia levar a óbito um milhão de pessoas por via nasal. A toxina age também por ingestão de alimentos nos quais o bacilo se multiplicou, tendo sido o alimento contaminado com fragmentos de solo no qual se encontravam os esporos da bactéria.

A toxina forma-se quando ocorre multiplicação bacteriana na ausência do oxigênio, como em uma conserva alimentícia preparada sem o cuidado de destruir previamente o agente. São reconhecidos sete tipos diferentes de toxinas (A-G), sendo que as antitoxinas preparadas em laboratório neutralizam exclusivamente o tipo homólogo e não os demais tipos, o que constitui sério problema para o tratamento do paciente, embora os tipos de toxina C e D não atinjam o homem. Os estoques de antitoxina são sempre bastante limitados, o que leva com frequência a falhas no tratamento de casos clínicos.

Ocorrem a cada ano cerca de duzentos casos de todas as formas de botulismo nos EUA. No Brasil não foi detectado nenhum caso de botulismo em 2000, mas houve 14 casos confirmados em 2009 e nove em 2012. Portanto a incidência é baixa e variável, incluindo aqueles causados pela implantação em lesões da pele do bacilo e os de origem alimentar (ver Gráfico 1, com dados para o Brasil). As formas respiratórias por inalação da toxina foram raramente observadas no homem, mas são documentadas em alguns casos, incluídas ações criminosas realizadas sobre bases militares no Japão entre 1990 e 1995 pela seita Aum Shinriko, posteriormente desmantelada naquele país.

A toxina não é absorvida na pele íntegra, porém penetra lesões superficiais e mucosas, como o trato digestivo e a árvore respiratória. Os sinais clínicos iniciam-se entre duas horas e sete dias após a ingestão da toxina, a qual, no sistema nervoso central, bloqueia o funcionamento

Gráfico 1: Número de casos suspeitos e confirmados de botulismo, Brasil, 1999-2012*



*Dados sujeitos a alteração.

Fonte: http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/pdf/2013/Jun/25/Grafico_Botulismo_suspeitos_confirmados_99a2012.pdf

de nervos essenciais ao processo respiratório, à fala e ao mecanismo de deglutição. Ocorrem ainda sintomas de deficiência na visão, e o paciente pode vir a falecer por paralisia dos músculos respiratórios. Os sujeitos que sobrevivem podem necessitar de longo período de tratamento até que ocorra recuperação dos nervos afetados e a consequente recuperação dos movimentos musculares correspondentes.

Devido a essas características, a toxina botulínica foi estudada no século passado em programas de armas biológicas de vários países como Japão, EUA e União Soviética. Em 1972, a Convenção Internacional de Armas Biológicas e Toxinas proibiu a fabricação da toxina botulínica, porém admite-se que ela continuou a ser fabricada por alguns países, sendo mesmo acopladas a artefatos militares que permitiriam seu lançamento sobre regiões distantes.

Curiosamente a mesma toxina, em dosagens muito baixas, é utilizada hoje em dia com fins cosméticos e médicos, como o controle de espasmos musculares.

A toxina é termolábil, ou seja, pode ser destruída por aquecimento a partir de 85°C por cinco minutos bem como pelos sistemas convencionais de tratamento de água para consumo humano, o que praticamente inviabiliza seu uso para a contaminação de reservatórios.

O diagnóstico laboratorial é realizado pela demonstração da toxina em material coletado do paciente, através da inoculação de camundongos, técnica que exige 48 horas para sua realização por laboratórios especializados. A bactéria pode ainda ser cultivada a partir de materiais do paciente, sendo os resultados obtidos após cerca de uma semana.

Tularemia

A infecção pela bactéria *Francisella tularensis* é a menos conhecida das doenças incluídas no grupo de maior risco, do ponto de vista do bioterrorismo. Essa inclusão deve-se principalmente ao fato de ser possível a infecção do homem por inoculação ou inalação de número muito pequeno de bactérias, em torno de dez unidades.

A infecção em condições naturais atinge extensas áreas no hemisfério norte – na América do Norte, Europa e Ásia –, e é uma típica zoonose. Em seus focos naturais a doença circula em muitos animais silvestres e domésticos, como cães e gatos, sendo transmitida ao homem por contato direto com esses animais ou com suas carcaças, e também pela picada de insetos e carrapatos contaminados com o agente. A bactéria sobrevive em regiões frias no solo úmido e em alimentos de animais.

O maior surto conhecido, com seiscentos casos humanos, ocorreu na Suécia em 1966-1967, no período de inverno, sendo os sintomas principais os quadros de infecção respiratória capazes de evoluir uma broncopneumonia fatal, faringite, lesões oculares e lesões de pele no local da picada do inseto ou carrapato infectado.

A letalidade no homem atinge 5 a 7% dos casos quando não há tratamento adequado.

Sob o ponto de vista do bioterrorismo, o agente foi estudado em vários programas de desenvolvimento de armas biológicas, e vários países chegaram a preparar volumes consideráveis do mesmo. Em aerossóis, de dez a cinquenta bacilos podem causar a infecção, e através da pele apenas dez bactérias são suficientes para tanto. Possíveis casos de tularemia por infecções intencionais foram descritos durante operações militares em 1944 na União Soviética.

No Brasil, como na maioria dos países, a doença não tem sido descrita por conta da dificuldade de ser clinicamente reconhecida.

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado pela demonstração do agente diretamente nos materiais coletados do paciente, por microscopia fotônica, por métodos imunológicos específicos e também por métodos moleculares. A bactéria pode ainda ser cultivada a partir desses mesmos materiais e anticorpos no sangue do paciente a confirmar o diagnóstico. O agente é perigoso no nível de laboratório, e deve ser manejado com estritos cuidados de biossegurança.

Vacinas são utilizadas na Rússia para proteção das populações em áreas de risco. Seu uso em outros países, porém, limita-se à proteção de pessoal de laboratório que maneja materiais clínicos.

Febres hemorrágicas virais

Historicamente este termo refere-se a quadros clínicos febris acompanhados por hemorragias de variada gravidade, causados por quatro distintos grupos de vírus: filovírus, compreendendo os vírus Ebola e Marburg de origem africana; arenavírus e vírus Lassa também originários da África; na América do Sul ocorrem os vírus Junin, Machupo, Guanarito e Sabiá na Argentina, Bolívia, Venezuela e no Brasil, respectivamente; bunivírus, causador da chamada febre do vale do Rift, é encontrado na África oriental, na Arábia Saudita e no Iêmen; hantavírus, amplamente distribuídos na Ásia, Europa e nas Américas; flavivírus, dos quais os mais importantes são os da dengue e febre amarela, ocorrendo ainda os vírus do oeste do Nilo, da febre de Omsk e da doença da floresta de Kyasanur nas Américas, na Ásia Central e na Índia. Todas essas doenças são transmitidas por artrópodos, mosquitos, carrapatos ou ainda através da urina de roedores. O arenavírus e o antavírus são transmitidos por aerossóis, infectando vias respiratórias.

Vários desses vírus foram trabalhados visando o desenvolvimento de armas biológicas pela União Soviética, EUA e Coreia do Norte, em especial os vírus Ebola, Marburg e Lassa, que podem ser transmitidos de pessoa a pessoa.

Os primeiros casos conhecidos de filovírus ocorreram em 1967 com o vírus de Marburg, através do contacto com primatas importados e autopsiados em uma indústria de produtos biológicos naquela cidade alemã, com vários casos hemorrágicos fatais. Na mesma época ocorreram casos fatais, pelo mesmo mecanismo, na então Iugoslávia. O vírus Ebola, que é muito próximo ao Marburg, tem causado repetidos surtos de casos humanos, especialmente no Zaire, atual República Democrática do Congo, e em países vizinhos. Mais de 1.500 casos foram notificados, com taxas de letalidade de até 60%, através do contato direto com casos clínicos, penetrando os vírus pela conjuntiva, por via respiratória ou por via digestiva.

O vírus Lassa e os demais do grupo transmitem-se por via respiratória, através do contato com aerossóis provenientes da urina de roedores hospedeiros. A transmissão por contato direto com pacientes foi descrita em algumas ocasiões por profissionais da área da saúde. Assim, em 1976, no norte do Zaire, a partir de um paciente internado em um hospital, foram afetadas 318 pessoas, com 280 casos fatais.

Para o vírus Junin foi desenvolvida vacina que é aplicada nas regiões endêmicas da Argentina, com redução significativa dos casos e de sua gravidade. A vacina protege de forma parcial contra o vírus Machupo, a variedade que circula na Bolívia. O vírus Sabiá foi isolado do único caso humano ocorrido na natureza, e que resultou na morte da paciente nos arredores da cidade de São Paulo.

Excetuando os filovírus e o vírus Lassa, não se conhecem projetos de utilização como armas biológicas dos demais agentes de febres hemorrágicas humanas.

Os agentes classificados no grupo B têm menor capacidade utilização na introdução em larga escala, embora alguns sejam agentes de infecção por via respiratória, como os da tuberculose e da encefalite equina venezuelana. Esta última chegou a fazer parte do grupo de agentes mais estudados como arma biológica, por infectar por via respiratória e produzir quadro febril agudo e incapacitante durante até duas semanas, com baixo número de casos fatais.

No grupo B está ainda incluída a ricina, produto tóxico obtido da semente da mamona, a qual bloqueia a formação de proteínas na célula, podendo levar à morte, em especial quando injetada. A toxina não está presente no óleo de rícino, porém ocorre na semente íntegra e na torta da mamona.

O produto foi encontrado na Inglaterra, em janeiro de 2003, em poder de indivíduos suspeitos de planejar ações de bioterrorismo. No mesmo ano descobriu-se ricina em duas cartas interceptadas pelos serviços postais dos EUA. Em 1978 o agente búlgaro de nome Georgi Markov havia sido morto em Londres por meio da inoculação parenteral da toxina.

O diagnóstico laboratorial pode ser executado por vários métodos, diretamente nos derivados da mamona e no sangue de pessoas que tenham tido contato com a toxina.

Em resumo, agentes patogênicos e produtos biológicos com possível aplicação em bioterrorismo foram extensamente estudados em vários países nas últimas décadas, incluindo o desenvolvimento de métodos para sua dispersão em ambientes abertos. O diagnóstico clínico, confirmado por exame laboratorial tão precoce quanto possível, é um dos pontos fundamentais para o controle dos efeitos desses agentes sobre as populações eventualmente atingidas por ações de bioterrorismo.

REFERÊNCIAS CONSULTADAS PELOS AUTORES

BARTH, Ortrud Monika.
Estudos sobre a contração negativa de suspensões virais. *Revista Brasileira de Biologia*, 44, p71-80. 1984.

BRAGA, Gisélia Cremilda dos Santos.
Bioterrorismo: proposta de um plano de contingência hospitalar a implementar face a uma ameaça. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto. 2011.

CDC.
Centers for Disease Control and Prevention.
Bioterrorism. Disponível em: <http://www.bt.cdc.gov/bioterrorism/>. Acesso em: 27 nov. 2013. s.d.

GARRETT, Laurie.
The coming plague. New York: Farrar, Straus & Giroux. 1994.

HENDERSON, Donald A.; INGLESBY, Thomas V.; O'TOOLE, Tara.
Bioterrorism. Chicago: American Medical Association. 2002.

MILLER, Judith; ENGELBERG, Stephen; BROAD, William J.

Germes: as armas biológicas e a guerra secreta da América. São Paulo: Ediouro. 2002

SCHATZMAYR, Hermann G.; BARTH, Ortrud Monika.

Características gerais dos vírus patogênicos para o homem. In: Coura, José Rodrigues (Ed.). *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias.* Rio de Janeiro: Guanabara. p.1645-1660. 2005.

SCHATZMAYR, Hermann G.; Azeredo-Costa, E.

Poxvírus. In: Coura, José Rodrigues (Ed.). *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias.* Rio de Janeiro: Guanabara. p.1935-1944. 2005.

SCHATZMAYR, Hermann G.

A varíola, uma antiga inimiga. *Cadernos de Saúde Pública,* Rio de Janeiro, v.17, n.6, p.1525-1530. 2001.



