

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
BIOLOGICKÁ FAKULTA



**Bojové biologické prostředky, diagnostika a terapie**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Autor: Barbora Šveráková

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Jan Kopecký, CSc.

České Budějovice 2007

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěla bych poděkovat svému školiteli Doc. RNDr. Janu Kopeckému, CSc. za hodnotné rady a Ing. Věře Neubauerové, Ph.D. za mnohé cenné podněty.

## **Bakalářská diplomová práce**

Šveráková B., 2007: Bojové biologické prostředky, diagnostika a terapie [ Biological Weapons, Diagnostics and Therapy ], 34p, Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic

### **Anotace:**

Biological terrorism is a real threat to all the world. Biological weapons fall into The Weapons of Mass Destruction and are biological agents-filled.

There are three main types of biological agents: Bacterial Agents ( Anthrax, Cholera... ), Rickettsiae (Rocky Mountain Spotted Fever, Typhus... ) and Viral Agents (Smallpox, Ebola Virus... ). These biological agents can bring on infectious diseases or poisoning.

Production of biological weapons is very cheap and biological agents are very complex systems of molecules, which makes much difficult to identify. Biological detection systems are currently in the research and early development stages. There are some commercially available devices that have limited utility (responding only to a small number of agents) and are generally high cost items.

People need world and life without terrorism. Is it impossible? No, It could be certainly possible but it will take long time!

**Prohlašuji,**

že tuto předloženou bakalářskou práci jsem vypracovala zcela samostatně,  
pouze s použitím uvedené literatury.

## **Obsah:**

1. Úvod
2. Bioterrorismus
  - 2.1 Definice
  - 2.2 Historie zneužití
  - 2.3 Rozdíl mezi přirozenou epidemií a použitím bojových biologických prostředků
  - 2.4 Biologická zbraň
  - 2.5 Technologie používané k rozšiřování biologických agens
3. Biologická agens
  - 3.1 Rozdělení
  - 3.2 Onemocnění
  - 3.3 Typičtí biologičtí původci použitelní jako náplň do biologické zbraně
    - 3.3.1 Bakteriální původci
    - 3.3.2 Viroví původci
4. Detekce a diagnostika
  - 4.1 Odběr vzorků
  - 4.2 Detekční technologie
    - 4.2.1 Bodové detekční technologie

- 4.2.1.1 Spouštěč
- 4.2.1.2 Sběrací zařízení ( kolekory )
- 4.2.1.3 Detektory
- 4.2.1.4 Identifikátory
- 4.2.2 Vzdálené detekční technologie
- 4.2.3 Pasivní technologie
- 4.3 Diagnostické možnosti pracovišť v České republice
- 5. Závěr
- 6. Literatura a ostatní použité zdroje
- 7. Příloha

## 1. ÚVOD

Po útoku na USA z 11. září 2001 si lidé uvědomili, jaká moc leží v rukou teroristů. Celosvětová hrozba terorismu se ukázala být reálnou. Nejen ničivost teroristických akcí, ale i bezmocnost a strach se podepsaly na psychice obyvatelstva postižených států. Avšak všechny tyto útoky měly za cíl „ pouze “ okamžitě zničit určitá místa. Ani v jednom případě nebyly použité biologické zbraně. Otázkou zůstává, zda se ale právě k podobnému činu neschyluje.

Současná bezpečnostní situace ve světě hrála roli v tom, proč jsem si vybrala téma bojových biologických prostředků pro svou bakalářskou práci. Česká republika, jako spojenec USA, se stala jedním z možných teroristických cílů.

Armáda České republiky má celosvětově uznávanou jednotku chemiků. Její vybavení a profesionalita vojáků je na nejvyšší úrovni. Specializované zdravotnické zařízení v Těchoníně završuje systém biologické ochrany AČR v oblasti laboratorní diagnostiky, izolace a hospitalizace osob se zvláště nebezpečnými nákazami. Mimo jiné je určeno k soustředění vojáků po návratu ze zahraničních misí.

O biologické zbraně se zajímám i z důvodu, že bych po studiu chtěla nastoupit k armádě a dále pracovat na detekci biologických zbraní a agens.

Ve své práci se snažím objasnit, jak by teroristé mohli zneužít biologických agens a použít je k vytvoření biologické zbraně. Je velký rozdíl mezi těmito dvěma klíčovými termíny. Biologické agens ( B-agens ) jsou živé choroboplodné organismy ( bakterie, rickettsie, chlamydie, viry a mikroskopické houby ) schopné vyvolat masová infekční onemocnění nebo otravy lidí, zvířat či rostlin. Biologická zbraň ( BZ ) v sobě zahrnuje technologii skladování, transportu, aplikace B-agens a vlastní biologické náplně. BZ patří mezi nejlevnější zbraně hromadného ničení. 1USD stačí k vytvoření 1 – 5 kg B-agens, která by zasáhla plochu o rozměrech 100 – 1000 km<sup>2</sup> a mohla by působit hodiny až týdny. Avšak nevýhoda spočívá v relativně vysokém stupni ohrožení vlastních vojsk útočníka.

Jaká B-agens by nejspíše byla zneužita? Jakým způsobem by se šířila? Je možné odlišit uměle vyvolaný epidemický proces od přirozeného? Konečný účinek biologického napadení je výslednicí vzájemného působení samotné BZ, napadeného objektu a vnějšího prostředí v prostoru napadení. Nejdůležitější je, jak rychle se podaří detekovat B-agens. Státy vynakládají milionové částky na výzkum nových technologií. Technologie můžeme rozdělit na dva základní typy – bodovou a vzdálenou. Bodová je umístěna přímo v prostředí B-agens či je do ní B-agens zaváděno. Vzdálené technologie používají světelný zdroj ( laserový paprsek ) pro detekci B-agens.

Všechny informace, které zde uvádím, jsem získala z literatury či z odborných článků na internetu. Největší množství se dá zjistit o B-agens. Je o nich psáno dopodrobna. Lze si vyvodit, která by byla neúčinnější, která by byla použita pro teroristický útok či u kterých je jen malá pravděpodobnost, že by se mohla stát



vlastní biologickou náplní do BZ. Naopak o detekci a technologiích, které dokáží odhalit BZ, je psáno méně. Domnívám se, že výzkum nových technologií se tají. Tím se chce zabránit, aby teroristé nebyli s vývojem BZ před detekčními technologiemi.

## **2. BIOTERRORISMUS**

### **2.1 Definice**

Bioterorismus je úmyslné zneužití biologického prostředku k vyvolání onemocnění lidí nebo zvířat. Může mít souvislost vojenskou, politickou, náboženskou nebo mít povahu prostého trestného činu.

Hlavním cílem bioteroristů je podlomit bojeschopnost vojsk, lidský a ekonomický potenciál a demoralizovat vojsko a obyvatelstvo.

### **2.2 Historie zneužití**

Za první BZ lze pokládat otrávené hroty šípů, které používaly jihoamerické kmeny již v neolitu. Toxiny získávaly z rostlin či jedovatých obojživelníků.

Ve 14. století se rozšířilo vrhání mrtvol lidí, kteří zemřeli na mor, přes hradby na nepřítel. V roce 1763 v Americe nařídil velitel anglických koloniálních vojsk Jeffrey Amherst rozdat domorodým indiánům přikrývky nakažené černými neštovicemi. Většina indiánů zahynula.

Ale až s rozvojem mikrobiologie na přelomu 19. a 20. století se začalo zkoumat, zda by infekčních chorob šlo využít jako zbraní. V první světové válce

Němci pravděpodobně rozšířili cholera v Itálii a mor v Sankt Petěrburgu. Proti tvorbě BZ vznikl 17. 6. 1925 Ženevský protokol – Protokol o zákazu užívat ve válce dusivých, jedovatých nebo podobných plynů a prostředků bakteriologických. Avšak výzkum BZ pokračoval dále. V 30. – 40. létech 20. století v Japonsku, od roku 1943 výzkumná skupina „ Bakteriologischer Krieg “ v Německu blízko Poznaně, 40. léta 20. století výzkum a vývoj v USA ( Fort Detrick ), ve Velké Británii ( Porton Down ) a v SSSR ( Leningrad, ostrovy Solovky, Novosibisk ).

Až po roce 1972 byla podepsána mezinárodní smlouva „ Úmluvy o zákazu vývoje, výroby a hromadění zásob bakteriologických ( biologických ) a toxinových zbraní a o jejich zničení “. V roce 1978 – 1980 mělo dojít k úplnému vymýcení neštovic. Pouze dvě laboratoře na světě oficiálně vlastní původce neštovic. A to Centrum pro kontrolu nemocí v Atlantě ( USA ) a Vektor v Kolcovu ( Rusko ).

V 80. a 90. letech 20. století se v souvislosti s výrobou BZ nejčastěji mluví o Iráku a Íránu. V roce 1981 teroristická skupina Temná sklizeň rozšířila antrax v anglickém Wilshire. Naštěstí se útok nezdařil díky špatným bakteriím. Teroristé ze sekty Óm šinrikjó ( Nejvyšší pravda ) se v roce 1990 – 1995 opakovaně pokoušeli rozprášit antrax v tokijském metru. Ale neuspěli, protože se jim zapaly rozprašovače. Poslední známý biologický útok se datuje roku 2001 v USA. Bakterie antraxu se našly v dopisech. Díky nim zemřelo několik lidí.

### **2.3 Rozdíl mezi přirozenou epidemií a použitím bojových biologických prostředků**

Mikrob je dopraven pomocí technického prostředku na cíl a je záměrně šířen v cílové populaci. Tím dochází k uměle navozeným hromadným intoxikacím či infekčním onemocněním. Takto nepřirozeně vyvolané epidemie mohou mít abnormální průběh. Mění se inkubační doba, ztrácí se sezónnost a mění se podíl různých klinických forem onemocnění.

### **2.4 Biologická zbraň ( BZ )**

BZ se řadí ke zbraním hromadného ničení stejně tak jako jaderné zbraně či chemické zbraně. Největší odlišností BZ od ostatních zbraní hromadného ničení je cena její výroby. Cena BZ je 100x až 1000x nižší! Proto se BZ také říká „ zbraně chudých “ či „ zbraně států třetího světa “. Další charakteristikou BZ je, že působí pouze na živou sílu, má vysokou bojovou účinnost, spontánní nárůst a samovolně se rozšiřuje dosah účinků po ukončení biologického útoku. Existuje časová prodleva mezi napadením a vznikem účinku. Tím se otevírá možnost skrytého napadení, které má o to vyšší psychologický účinek. Bojové biologické prostředky vyvolávají epidemie, epizootie a kontaminují rostliny. Vyskytuje se také nebezpečí, že nemoc vypukne opakovaně či že ohrozí vlastní vojska útočníka.

Ideální náplní BZ jsou agens, jejichž minimální dávka (několik spor či organismů) vede k onemocnění či ke smrti. Musí mít reziduální efekt, účinné vakcíny chybí nebo jsou jen v malém množství k dispozici, spolehlivě rostou při masové produkci, dlouho přežívají při skladování či ve zbraňových systémech, lze je jednoduše transportovat a jsou stabilní v zevním prostředí.

Způsoby použití BZ jsou dány způsoby šíření B-agens. Za neúčinnější a nejpravděpodobnější se bere napadení biologickým aerosolem (kontaminace přízemních vrstev atmosféry). Další možnost šíření je transmisí (rozšiřování infikovaných přenašečů nálezů) a diverzí (skrytá kontaminace potravin, pitné vody, vzduchu v uzavřených prostorech nebo jiných objektů vnějšího prostředí).

Biologický aerosol je nejjednodušším řešením, ale musí splňovat mnoho požadavků. Biologický aerosolový oblak by měl být homogenní, stabilní v atmosféře a schopný zasáhnout živé organismy v maximálně možném počtu. Je prokázáno, že za příznivých povětrnostních podmínek lze 200 kg biologického materiálu (t.j. průměrná náplň jedné letecké pumy či rozstřikovacího zařízení) kontaminovat plochu více jak 6000 km<sup>2</sup>. Úspěšnost aerosolového šíření B-agens je 40 – 60 %.

Šíření B-agens pomocí živých vektorů není často využíváno. Za nejvhodnější druhy, které se dají použít do náplní BZ, se považují vši infikované původci skvrnitého tyfu, komáři s původci východo-koňské encefalitidy, blechy s původci moru a klíšata infikovaná původci tularémie.

Diverzní způsob šíření je vhodný především k rozšiřování původců nákaz v mlékárenském průmyslu, potravinářských závodech a ke kontaminaci pitné vody.

## **2.5 Technologie používané k rozšiřování B-agens**

Prostředky, které slouží k rozšiřování B-agens, jsou konstruovány na tvorbu biologického aerosolu nebo k šíření nákaz živými vektory. Ke tvorbě biologického aerosolu se používají bojové hlavice s biologickou náplní pro řízené střely, biologické letecké pumy, rozstříkovací a rozprašovací letecká zařízení a aerosolové generátory.

Bojová hlavice má ve svém těle kontejner, kde dochází k tepelné regulaci a je zde uloženo několik stovek pumiček obsahující biologickou náplň. V určené výšce nad cílem dochází k výbuchu, tělo hlavice a kontejneru se roztrhne a pumičky rotujícím pohybem klesají k zemi. Tím se rovnoměrně rozptýlí, po dopadu se aktivuje výbušná náplň, tělo pumičky se roztrhne a biologický materiál se ve formě aerosolu rozptýlí od okolního prostředí a může se šířit terénem na velké vzdálenosti.

Biologické časované letecké pumy se rozdělují na klasické a skříňové. Klasické mají v těle zásobní prostor pro uložení B-agens a ve skříňových je uloženo velké množství malých biologických pum. Jejich tělo se roztrhne přesně podle načasování. Výhoda pum spočívá v jednoduchosti, spolehlivosti a levnosti.

Nevýhodou je úhyn živých mikroorganismů při výbuchu, nehomogenní aerosol a z toho vyplývá nízká efektivnost využití biologické náplně.

Rozstříkovací či rozprašovací zařízení upevněná na pilotovaných či bezpilotních letadlech patří k nejjednodušším a levným prostředkům. V zásobní nádrži je uložena biologická náplň, její teplotu kontroluje vyhřevný a chladicí systém. Tlakový systém řídí vytlačování množství B-agens do vypouštěcí trysky. K usmrcování mikrobiálních kultur nedochází, tím efektivnost stoupá. Biologický oblak je stálejší, přesto málo homogenní (částice nemají optimální velikost). Efektivnost využití náplně je stále ještě nízká.

Vysokou efektivnost mají aerosolové generátory. Tato zařízení obsahují zásobní nádrž na B-agens, generátor a iniciační zařízení. Velké plochy se kontaminují bezhlučně, částice mají v homogenním aerosolu optimální velikost a účinnost využití náplně je vysoká. Nepříznivá ale bude cena a značná mechanická složitost.

K rozšíření živých přenašečů nález lze použít padákových biologických pum. Tělo je vyrobeno z papíru, z keramických hmot... Uvnitř se nachází vektory. Po dopadu na zem se puma rozbije a infikovaní živočichové se rozptýlí v prostoru. Některá munice má i elektrický ohřívací systém, aby přenašeči přežili dopravu bez oslabení a úmrtí.

### **3. BIOLOGICKÁ AGENS**

#### **3.1 Rozdělení**

Biologické prostředky můžeme rozdělit do 5 základních skupin: viry, rickettsie, bakterie, plísně – houby a prvoci. Zvláštní skupinu tvoří toxiny. Toxiny jsou jedy produkované bakteriemi.

Viry tvoří přechod od jednobuněčných organismů k neživým organickým sloučeninám. Rozměry se pohybují okolo 0,03 - 0,01 $\mu$ m. Díky svým rozměrům prochází filtrační materiály. Nemnoží se na živných půdách, pouze v živých buňkách tkáňových kultur. Mezi virová onemocnění patří např. variola, virové hemoragické horečky, encefalitidy.

Rickettsie jsou choroboplodné organismy stojící na rozhraní mezi viry a bakteriemi. Množí se pouze v živých buňkách. Mají velikost cca 2  $\mu$ m a strukturu buňky jako g<sup>-</sup> bakterie. Patří sem např. horečka Skalických hor či skvrnivka.

Bakterie patří mezi jednobuněčné organismy o velikost 0,1 – 10  $\mu$ m. Mají schopnost samostatně se pohybovat v prostředí. Z onemocnění, jejichž původci by

byli použitelní pro náplně do BZ, sem patří např. antrax, brucelóza, mor, cholera, tularémie, Q-horečka či břišní tyfus.

Houby – plísně náleží k jedno- i vícebuněčným organismům, vlastnostmi se podobají bakteriím. Ale k výrobě BZ se stejně jako prvoci nepoužívají. Pro bioterorismus se nejvíce hodí viry, rickettsie a bakterie.

### **3.2 Onemocnění**

Organismy určené pro bioterorismus musí mít vysokou míru patogenity, která se nazývá virulence. Úspěšné patogeni musí být použitelné a přenosné v okolním prostředí, dokáží se připojit k povrchu hostitele, překonat obrany těla vůči infekci a poškodit hostitele. B-agens může poškodit lidský organismus infekcí či otravou. Infekce je nemoc vyvolaná patogenem. Otrava se většinou děje produktem patogena ( toxinem ). Pro teroristy je nejideálnější, když B-agens vyvolají onemocnění přenosné. Přenos může být přímý – kontaktem, pohlavním stykem, kapénkami či transplacentárně. Nebo nepřímý – předměty, vzduchem, potravinami vodou či vektorem.

### **3.3 Typičtí biologičtí původci použitelní jako náplň do biologické zbraně**

#### **3.3.1 Bakteriální původci**

Z bakteriálních infekčních onemocnění je nejpravděpodobnější, že by teroristé použili antrax ( *Bacillus anthracis* ). Infekční dávka v aerosolu je 8 až 50000 spor.



Známy jsou tři formy antraxu – kožní, střevní a plicní. Letalita je vysoká. Antrax se projevuje hemoragickou pneumonií a septickým stavem.

Mor ( *Yersinia pestis* ) by mohl být také možnou zneužitelnou infekcí. Jeho výhoda spočívá ve vysokém interhumánním přenosu, kdy na nákazu stačí méně jak 100 organismů. Letalita je vysoká ( až 100% ), pokud nedojde k залéčení. Projevuje se náhlým vysokým vzestupem teploty a ztrátami vědomí.

U cholery ( *Vibrio cholerae* ) je též možný interhumánní přenos. Je to akutní bakteriální střevní onemocnění, k nákaze je nutné 10 – 500 organismů. Díky vodnatým průjmom a křečím by se cholera zdála být ideální B-agens pro BZ, ale nestabilita původce v aerosolu tomu zabraňuje.

1-10 organismů stačí k nákaze Q-horečkou ( *Coxiella burnetii* ). Má několik forem, ale převažuje forma plicní, která se nejlépe šíří aerosolem a byla by použita při bojovém biologickém útoku. Letalita je nízká a existuje očkování.

U brucelózy ( *Brucella melitensis*, *B. abortus* a *B. suis* ) a tularémie ( *Francisella tularensis* ) nebyl prokázán mezilidský přenos, letalita je nízká až střední, dávka 10 až 100 organismů je potřebná pro nakažení. Brucelóza se projevuje záněty lymfatického systému a neexistuje proti ní vakcinace. Tularémie je charakterizována kožní lézí, horečkou, orgánovým postižením a očkování je možné.

### 3.3.2 Viroví původci

Z virových nálezů se uvažuje o použití varioly ( Poxviry – čeleď *Poxviridae* ). Rezervoárem je člověk a interhumánní přenos je vysoký. Infekční dávka je nízká – 10 – 100 virionů. V dnešní době by měly mít původce neštovic pouze 2 laboratoře ( v USA a v Rusku ). Od roku 1980 se variola považuje za vymýcenou. Onemocnění se projevuje vysokými horečkami a vznikem exantému s vývojem vezikul ( postižena je kůže i sliznice ).

Virové hemoragické horečky dostaly název od horečnatých onemocnění se sklonem ke krvácení, vyvolaných viry, které patří do 4 různých čeledí: *Filoviridae*, *Arenaviridae*, *Bunyaviridae*, *Flaviviridae* ( viz. tabulka Virové hemoragické horečky – rozdělení strana 18 )

Původci jsou malé RNK viry s lipidovými obaly. Všechny vyvolávají trombocytopenii. Nespecificky se nemoc projevuje jako horečka, myalgie, raš a encefalitis.

Terapie hemoragických horeček je pouze podpůrná. Podává se aspirin, nesteroidní protizánětlivé přípravky a ribavirin. Ribavirin je virostatikum, synergicky působí s interferonem, účinkuje pouze na Arena- a Bunyaviry a využívá se hlavně k léčbě virové hepatitidy typu C.

Nejnebezpečnější virus Ebola patří do čeledi *Filoviridae*. Nemoc propuká během několika dnů a letalita dosahuje 50 – 90%. Do stejné čeledi patří Marburg, jehož letalita je srovnatelná s Ebolou ( 70% ). Oba jsou přenášeny interhumánně, přirozený vektor nebyl doposud objeven a vyskytují se v Africe.

Z čeledi *Arenaviridae* lze k přípravě biologické náplně použít virus Lassa a Arenaviry. Arenaviry mají nižší letalitu ( 15 – 30% ), jsou přenášeny hlodavci a přirozeně se nachází v západní Africe ( Lassa ) a Americe.

Moskyti se stali přirozeným vektorem pro virus žluté zimnice ( čeleď *Flaviviridae* ) v Africe a v tropické oblasti Ameriky. Nepřenáší se interhumánně, inkubace trvá 3 – 6 dní a úmrtnost se pohybuje kolem 20%.

#### Virové hemoragické horečky – rozdělení

Čeleď	Rod	Virus	Nemoc	Přirozený vektor	Oblast výskytu
<b>Filoviridae</b>	Filovirus	<b>Ebola</b> α)	HH Ebola	Neznámý	Afrika
		<b>Marburg</b>	Marburgská HH	Neznámý	Afrika
<b>Arenaviridae</b>	Arenavirus	<b>Lassa</b>	Horečka Lassa	Hlodavci	Západ. Afrika
		<b>Arenaviry</b> β)	HH Nového světa	Hlodavci	Ameriky
<b>Bunyaviridae</b>	Nairovirus	virus Krymsko-Konžské	HH	Klíště	Afrika, Asie, Východ.Evropa, Střední Východ
	Phlebovirus	<b>Rift Valley Fever</b>	Horečka Rift Valley	Moskyti	Afrika, Saudská Arábie, Jemen
	Hantavirus	Viry vyvolávající syndromem	HH s renálním	Hlodavci	Asie, Balkán, Evropa, Eurasie*
<b>Flaviviridae</b>	Flavivirus	Dengue	Horečka Dengue Dengue HH a Dengue šokový syndrom	Moskyti	Asie, Afrika, Pacifik, Ameriky
		<b>v. žluté zimnice</b>	Žlutá zimnice	Moskyti	Afrika, tropické oblasti Amerik
		<b>v. Omské HH</b>	Omská hemor. hor.	Klíště	Střední Asie
		<b>v. Kyasanur Forest disease</b>		Klíště	Indie

Vysvětlivky: # tučné písmo označuje původce HH, které je možno užít k přípravě nejnebezpečnějších zbraní  
 α jsou 4 subtypy v.Ebola: Zaire, Sudan, Ivory Coast a Reston  
 β k arenavirům Nového světa patří v. Machupo- původce Bolivijské HH, v. Junin- původce Argentinské HH, v. Guanarito- původce Venezuelské HH a v. Sabia- původce Brazílské HH.  
 Další arenavirus byl izolován v Kalifornii po 3 smrtelných HH v letech 1999-2000  
 \* agens hantavirového plicního syndromu byl izolován také v Severní Americe

## **4. DETEKCE A DIAGNOSTIKA**

### **4.1 Odběr vzorků**

Aby analýza byla přesná, musí se dodržet správný způsob odběru, balení, manipulace a transportu vzorků. Veškeré vyhodnocovací metody závisí na kvalitě vzorku a míře degradace. Odběr provádí profesionálové, aby riziko kontaminace bylo co nejnižší. Vzorky se nesmí smíchat ani náhodně rozšířit, musí být podrobně zdokumentováno, o jaký typ vzorku se jednalo, kdy, kde, za jakých okolností a jakým způsobem k odběru došlo. Nesmí chybět základní popis a také dokumentace všech manipulací se vzorkem.

Nejlepší informační hodnotu má vzorek krve. Jeho stabilita je dostatečná a věrohodnost analýzy vysoká. Podobně to vypadá se vzduchem, vodou a močí. Vzorek vegetace je velice málo stabilní, a proto věrohodnost analýzy je nejnižší.

Mezinárodní podmínky pro přepravu infekčních materiálů jednoznačně určují, jakým způsobem balení vzorku probíhá. Zabaleny vzorek musí mít tři obaly – primární, sekundární a vnější přepravní.

Primární obal představuje neprosakující vodotěsnou schránku se vzorkem. Schránka je ještě obalená absorpčním materiálem. Primární schránku chrání sekundární, neprosakující a voděodolná schránka. Třetí vrstvou je vnější přepravní obal, který obsah chrání před vnějšími vlivy.

Zásilka musí být označena varovnými nálepkami. Vzorky se posílají do specializovaných laboratoří. Laboratoře se dělí podle úrovně biologické ochrany ( Biosafety level ) na BSL1, BSL2, BSL3 a BSL4. Do BSL1 jdou vzorky B-agens, jenž jsou nepravděpodobné jako vyvolavatel onemocnění u lidí. Naopak transportované vzorky do BSL4 mohou vyvolat těžké onemocnění u člověka, představují významné riziko pro pracovníky a není na ně dostupná profylaxe a léčba.

## **4.2 Detekční technologie**

Můžeme je rozdělit na bodové technologie a vzdálené technologie.

### 4.2.1 Bodové detekční technologie

Jsou umístěné v prostředí s B-agens nebo se předpokládána B-agens do nich vkládá. Obsahují čtyři základní složky – spouštěč ( nespecifický detektor ), sběrací zařízení ( kolektor ), detektor a identifikátor.

#### 4.2.1.1 Spouštěč

Nespecifický detektor orientačně stanoví zvýšené množství partikulí, které by mohlo znamenat přítomnost B-agens.

Relativní počet částic o specifické velikosti ( 0,5 - 30 $\mu$ m ) počítají systémy APS ( Aerodynamic Particle Sizing ), HVAPS ( High Volume Aerodynamic Particle Sizer ) a Met-One.

APS se soustředí na velikost částic. Proud vzduchu obsahující částice je vtažen do APS zařízení skrz trysku.. Vytváří se řízený vysokorychlostní aerosolový proud. Laserový paprsek měří čas letu každé částice. Menší částice jsou rychlejší, protože během proudění zrychlují ( menší částice zrychlují rychleji než částice větší ).

Fluorescenční metody FLAPS (Fluorescent Aerodynamic Particle Sizer), UVAPS (Ultraviolet Aerodynamic Particle Sizer), BAWS (Biological Aerosol Warning System), PBS (Portable Biofluorosensor) a SPFC (Single-Particle Fluorescence Counter) detekují excitaci složek materiálu ve světle.

FLAPS je APS, který byl upravený tak, že obsahuje další laser, který umožňuje aerosolovou částicovou fluorescenci vedle standardního určení velikosti částic. Je součástí detekčního systému CIBADS.

BAWS je zařízení na principu laserového paprsku, které je schopno v mraku detekovat, zda se v něm vyskytují anorganické nebo biologické částice. Proud vzduchu prochází přes komoru se senzorem, částice v proudu vzduchu jsou osvětleny pulsujícím UV mikročipovým laserem. Tři fotonásobičové trubice (PMTs) měří pružně rozptýlené světlo, UV fluorescenci a viditelnou fluorescenci částic.

PBS bylo užíváno v operaci „ Pouštní bouře “. Technika používá UV světlo z xenonové kapesní svítilny k excitaci vzdušného aerosolu a aerosolu rozpuštěného ve vodě. Excitace vlnové délky minimalizuje ovlivnění prachem,... Ale nevyloučí falešné pozitivní výsledky. Kapalně vzorky kontaminované sporama poskytnou lepší výsledky než vzdušné vzorky.

#### 4.2.1.2 Sběrací zařízení ( kolektory )

Jakmile kolektory obdrží od spouštěče signál indikující změnu, je zahájen sběr vzorků. Vzorkovací techniky nesmí poškodit odebíraný vzorek. A pro detekci a identifikaci se většinou vyžaduje vzorek tekutý. Používají se vzorkovače:

Viable Particle Size Samplers,

Virtual Impactors (Liquid Sampler, BioVIC Aerosol Collector)

Cyclone Samplers (Interim Biological Agent Detector System, Smart Air Sampler System, Portable High-Throughput Liquid Aerosol Air Sampler System)

Hand-Held Sampling Kit (Department of Defense Biological Sampling Kit)

Hand-Held Sampling Device (BioCapture BT-500 Air Sampler)

BioCapture BT-500 Air Sampler je ruční, přenosný, bateriemi poháněný vzduchový vzorkovač, který shromažďuje vzorky vzduchu pro počítání koncentrací. Mikrobi jsou zachyceni a soustředěni do vodních vzorků, aby mohli být analyzováni.

#### 4.2.1.3 Detektor

Předmětem detekce je celý mikroorganismus, strukturní složky a metabolické produkty mikroorganismu. Detekce musí být specifická, selektivní a citlivá.

Detektory určí, zda jde o částice biologického či anorganického původu.

Detektory jsou rozdělené na dvě skupiny – mokrá a suchá detekce.

Mokrá detekce ( Flow cytometry = FCM ) měří fyzikální a chemické charakteristiky buněk, provádí měření buněk nebo dalších částic v pohybujícím se proudu tekutiny. Tekutina prochází „testovacím bodem“. Automatizace metody umožní zpracování tisíce vzorků v několika sekundách. FCM dokáže detekovat B-agens pomocí protilátek. Nevyžaduje kultivaci buněk, umožňuje detekci více



antigenů ve stejnou dobu. Metoda je stejně spolehlivá a citlivá jako ELISA. Je možné detekovat bakteriální toxiny i virové antigeny na povrchu nebo uvnitř infikovaných buněk. Jednotlivé patogeny jsou identifikovány díky specifitě protilátek a možnosti použití značených protilátek pro specifické antigeny.

Hmotnostní spektrofotometrie ( suchá detekce ) je mikroanalytická technika, která vyžaduje jen několik nanogramů analytu pro získání charakteristických informací o struktuře a molekulové hmotnosti analytu, výsledkem je hmotnostní spektrum – MALDI -TOF MS, CBMS

MALDI -TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time-Of-Flight ) je hmotnostní spektrometr. Identifikuje proteiny i celá B-agens. Protein je identifikován ze souboru peptidů o určitých hodnotách  $m/z$  (hmotnost/náboj), který je jedinečný pro jednotlivé proteiny, porovnáním tohoto souboru se soubory uvedenými v databázích. Tato technologie analyzuje rychle, má vysokou citlivost, a přesnost.

CBMS je chemický a biologický hmotnostní spektrometr. Dochází zde k termální degradaci materiálu ve vakuu, teplota pyrolyzéry je 600°C. Využívá se jak detekce, tak k identifikace. Analyzuje aerosol s biologickým obsahem a rozděljuje biologické složky ( buňky, toxiny, spory ). Separuje produkty pyrolýzy na základě jejich  $m/z$  a vytváří jejich hmotnostní spektrum.

#### 4.2.1.4 Identifikátory

Identifikují jednotlivá B-agens na základě specifických biomakerů, které jsou unikátní pro dané agens.

Biosenzor je analytický přístroj, který je schopný zjistit přítomnost, identitu a kvantitu B-agens. Tvoří ho biorekogniční složka, která způsobuje chemickou reakci, a fyzikálně-chemický převodník, který poskytuje signál vhodný k dalšímu zpracování. Mění se fyzikálně-chemické vlastnosti citlivé vrstvy biosenzoru. Tyto změny jsou detekovány fyzikálně-chemickým převodníkem, mění se na elektrický signál a ten je dál zpracován. Je to rychlá metoda s vysokou specifitou a nízkými pořizovacími náklady.

Immunoassay technologie detekují a měří vysoce specificky vazby antigenů a jim odpovídajících protilátek, tzv. jednorázové testy. Lze detekovat i několik B-agens v jednom testu ( při pozitivě testu víme, že minimálně jedno B-agens ze skupiny je přítomno ).

BTA Test Strips využívá monoklonální protilátky značené koloidním zlatem. Jako vnitřní kontrola slouží proužek v oblasti „C“ ( viz. Příloha – BTA Test Strips )



**BTA Test Strips**

Identifikace nukleových kyselin jsou základem vysoce specifických a rychlých metod, které se rychle rozvíjejí a rozšiřují.

RAPID (Ruggedized Advanced Pathogen Identification Device ) je používán od roku 1988. Je určen pro bezpečnou a přesnou identifikaci B-agens v polních podmínkách, detekuje přítomnost DNA ( princip: real-time PCR ). Potřebuje 5-20 $\mu$ l vzorku na jednu analýzu a výsledek je znám do 30 min. ( viz. Příloha – RAPID )

RAZOR je přenosné zařízení pro rychlou identifikaci B-agens v polních podmínkách. Detekční software automaticky vyhodnocuje křivku amplifikace a zaznamenává výsledky na LCD panelu jako hodnoty + nebo - ( viz. Příloha – RAZOR )

#### 4.2.2 Vzdálené detekční technologie

Systém LIDAR (Light Detection And Ranging ) je konstruovaný k detekci a identifikaci B-agens. Systém není přítomný v biologickém aerosolu, je naopak od něj vzdálený. Neskládá se ze čtyř částí jako bodové technologie, ale užívá světelných zdrojů, jakým je například laser, pro detekci B-agens.

Z technologie je odeslán krátký laserový puls skrz atmosféru. Část záření je odražena zpátky do vzdáleného cíle nebo od atmosférických částic jako jsou molekuly, aerosol, mraky nebo prach. Všechny systémy musí být přímočaré, aby se dala detekovat B-agens. LIDAR používá světlo, které je složené z krátké vlnové energie. Takové světlo je schopné rozpoznat malé aerosolové částičky (

převážně menší jak  $20\mu\text{m}$  ) charakteristické pro atak B-agens. Systém je schopen „dohlédnout“ 30 – 50 km, pokud je atmosféra úplně propustná světelné vlně.

Jediný limitující faktor je nedostatek použitelných malých, levných a vysokorychlostních laserů.

( viz. Příloha – LIDAR )

#### 4.2.3 Pasivní detekční technologie

Systém závisí na elektromagnetické energii přítomné v prostředí pro detekci B-agens. Typicky tyto systémy berou v úvahu mid-IR (3  $\mu\text{m}$  to 5  $\mu\text{m}$ ) nebo far-IR (8  $\mu\text{m}$  to 12  $\mu\text{m}$ ) oblast spektra pro určitou B-agens. Současní vědci zkoumají užitečnost IR spektroskopie pro detekci a identifikaci B-agens.

#### **4.3 Diagnostické možnosti pracovišť v České republice**

Diagnostiku lze rozdělit na přímou, nepřímou a rapidní.

Přímou diagnostikou se prokazuje původce. Z metod sem patří kultivace, mikroskopický průkaz, přímá imunofluorescence, ELISA a PCR.

Nepřímou diagnostikou se prokazují vytvořené protilátky. Používají se laboratorní metody se značenými složkami – ELISA a nepřímá imunofluorescence. Také sem patří KFR (komplement fixační reakce). Komplement se váže na vznikající komplexy antigenu a protilátky. Pozitivní výsledek svědčí o časně infekci.

Rapidní (rychlá) diagnostika využívá všech dostupných metod, především mikroskopický průkaz, imunofluorescenci, ELISA a PCR.

## 5. ZÁVĚR

Terorismus se stal globálním problémem. Ač použití biologických zbraní není až tak časté, musíme i s ním počítat. Vzhledem k tomu, že biologické zbraně jsou nejlevnějšími zbraněmi hromadného ničení, je jen otázkou času, kdy je nějaká teroristická skupina začne vyrábět a používat. Proti bioterorismu a i terorismu jako takovému se lze bránit jen tím, že se teroristickým skupinám znemožní financování. To znamená tvrdě potírat obchod s drogami a zbraněmi a poučit se z chyb, které se udělaly v minulosti, kdy cizí stát podporoval (finančně, zbraněmi) určitou skupinu v jiném státě. Tato skupina měla zaručit větší vliv pro cizí stát. Ale pokaždé to přispělo k rozvrácení, destabilizaci či občanské válce v zemi.

Jinak s bioterorismem bojovat nelze. Vymýtit biologické agens, u kterých se dá předpokládat, že budou použity k výrobě biologických zbraní, není možné. Spóry i organismy dokáží v půdě přečkat desítky let. Na mnohé ještě není objevená profylaxe, na vakcinacích se pracuje. Dobrou zprávou je, že většina biologických zbraní je citlivá na sluneční světlo, zvláště jeho ultrafialovou složku. Vítr má zředňovací účinek a koncentrace biologického činitele při příznivém větru klesá poměrně rychle pod účinnou koncentraci. Vliv vnější teploty je na různé mikroby různý, zvláště je jich mnoho odolných vůči mrazu. Vyschnutí má rovněž u některých bakterií inaktivační účinek. Na poslední dva faktory je možné se spoléhat jenom v případě, že víme, o který mikrob jde a známe jeho vlastnosti.

Naštěstí detekce je v dnešní době mnohem rychlejší a jednodušší díky rozvoji genetiky, mikrobiologie a počítačové technologie. Pouze cena technologií je stále příliš vysoká. Pokud by cena dokázala klesnout, i to by napomohlo v boji proti terorismu. Potom by diagnostické možnosti pracovišť byly vyšší, patogeny by byly detekovány a identifikovány okamžitě a mohlo by se tím zabránit případným epidemiím.

Za velice zajímavé považuji vzdálené detekční technologie. Největší výhodou systému LIDAR je, že detekční technologie nemusí být na místě podezřelém z výskytu neobvyklého množství B-agens. Kontaminovaný aerosol neprochází přístrojem. Tím je maximálně sníženo riziko onemocnění lidí, kteří s technologií pracují. Bude potřeba domyslet, jakým způsobem či jakou technologií by se daly nahradit malé lasery, které jsou příliš drahé a je jich nedostatek.

Za zamyšlení stojí i otázka, jak by si Česká republika vedla při biologickém útoku. Protože i obyčejnou chřipku lze použít jako biologickou náplň do biologické zbraně, rok 2006 mi jednoznačně odpověděl, jak by to dopadlo. Po velké hysterii, která vznikla na konci roku 2006, kdy se objevila v České republice ptačí chřipka, jsem nabyla dojmu, že české zdravotnictví by při biologickém útoku rozhodně neuspělo. Chyběla by vakcinace, obyvatelstvo by propadlo panice, informovanost by byla útržková, neplnohodnotná. Přesně o tento obraz společnosti teroristům jde.

Boj s terorismem není určitě předem prohraný, ale pokud nebudou spolupracovat všechny státy, zdravotní organizace i obyčejní úředníci na celé planetě, potom to bude boj s větrnými mlýny.

## **6. LITERATURA A OSTATNÍ POUŽITÉ ZDROJE**

- Borio, L., Inglesby, T., Peters, C. J.: Hemorrhagic Fever Viruses as Biological Weapons, JAMA, May 2002, vol. 287, no. 18, p. 2391 - 2405
- Daneš, L.: Bioterrorismus, Karolinum 2003, ISBN 80-246-0693-3
- Ministerstvo zdravotnictví České republiky, obor bezpečnosti a krizového řízení: Diagnostika, léčba a protiepidemická opatření u nemocných a zasažených bojovými biologickými prostředky nebo zvláště nebezpečnými patogeny, 2001

- National Institute of Justice: An Introduction to Biological Agent Detection Equipment for Emergency First Responders, NIJ Guide, 2001
- Neubauerová, V., Pohanka, M. : Systém detekce B-agens, 2005 ( powerpoint prezentace )
- Office of state and local government coordination nad preparedness system support division: Guide for the Selection of Biological Agent Detection Equipment for Emergency First Responders, Guide 101 – 04, Volume I, March 2005
- Seidlerová, A., Koblíha, J. : Ehrlichie ( Anaplasma ), rickettsie a jejich diagnostika (Anaplasma) ( powerpoint prezentace )

### **Internetové zdroje**

[www.bio.davidson.edu/Courses/Immunology/Students/Spring2003/Sole/home.html](http://www.bio.davidson.edu/Courses/Immunology/Students/Spring2003/Sole/home.html)

[www.blisty.cz](http://www.blisty.cz)

[www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

[www.czu.cz](http://www.czu.cz)

[www.fnb.cz/oddeleni/inf/inf\\_vlastni/inf.htm](http://www.fnb.cz/oddeleni/inf/inf_vlastni/inf.htm)

[www.foodanthy.nsw.gov.au](http://www.foodanthy.nsw.gov.au)

[www.iabc.cz](http://www.iabc.cz)

[www.imcworldwide.org](http://www.imcworldwide.org)



[www.nebi.nlm.nih.gov](http://www.nebi.nlm.nih.gov)

[www.opcw.org](http://www.opcw.org)

[www.osud.cz](http://www.osud.cz)

[www.thclarkinc.com](http://www.thclarkinc.com)

[www.unitedstatesaction.com](http://www.unitedstatesaction.com)

[www.vakciny.net](http://www.vakciny.net)

[www.valka.cz](http://www.valka.cz)

[www.wnysmart.org](http://www.wnysmart.org)

[www1.lf1.cuni.cz/~hrozs/](http://www1.lf1.cuni.cz/~hrozs/)

[www.solen.cz](http://www.solen.cz)

[www.lavet.cz](http://www.lavet.cz)

[www.army.cz](http://www.army.cz)

[www.wmdfirstresponders.com/Biological.htm](http://www.wmdfirstresponders.com/Biological.htm)

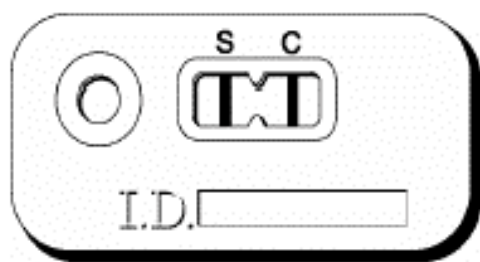
[saver.tamu.edu/documents.php?fl=106&c=7&s=3&pn=14](http://saver.tamu.edu/documents.php?fl=106&c=7&s=3&pn=14)

[www.ecolab-lkb.cz](http://www.ecolab-lkb.cz)

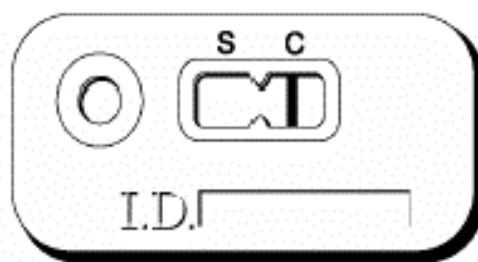
[www.biotox.cz](http://www.biotox.cz)

[dentistry.uic.edu](http://dentistry.uic.edu)

## 7. PŘÍLOHA



**Positive**



**Negative**

## BTA Test Strips



**RAPID**



**RAZOR**



**LIDAR**