

Toxiny v biologické válce (When biotoxins are tools of terror)

Blazes D.L., Lawler J.V., Lazarus A.A.
Postgrad.Med., Vol.112, 2002, č. 2, s. 89 – 96
Volně přeložil a zkrátil MUDr. Plesník

Včasně zjištění úmyslné otravy může zmírnit její následky

Již několik tisíciletí zná lidstvo toxiny jako příčinu onemocnění, ale i jako lék, mohou se stát prokletím i požehnáním. V současnosti je pravděpodobné jejich nasazení v biologické válce, vedené diktátorskými režimy, nebo teroristickými organizacemi. Tento článek obsahuje přehled kliniky a epidemiologie otrav, vyvolaných toxiny s pravděpodobným bojovým využitím.

V přírodě využívají některé bakterie, houby, rostliny a zvířata toxiny ke své obraně i k agresi. Lidé se občas stanou náhodnou obětí jejich toxinů, vyvolávajících např. tetanus, botulismus a alimentární intoxikace. V současnosti musíme také počítat s využitím toxinů jako zbraně biologické války.

Některé toxiny byly k tomuto účelu vyrobeny různými státy a asi i teroristickými organizacemi. Např. před rokem 1969 také USA vyráběly botulotoxin v rámci svého programu vývoje biologických zbraní. O Iráku se soudí, že má tisíce litrů botulotoxinu, což by stačilo k zavraždění všech lidí na celém světě. Toxiny jsou jako zbraň zajímavé vzhledem ke své mimořádné účinnosti a poměrně snadné přípravě. Patří mezi ně některé nejjedovatější látky. Letální dávku často představuje již nanogramové množství toxinu. Řada toxinů je v obvyklém přírodním prostředí stabilní.

Toxiny představují skupinu různorodých látek biologického původu, mající různé vlastnosti a mechanismus působení (viz tab. 1.) Jejich složení se pohybuje od velmi malých, nepeptidových organických látek, až po velké složité proteiny. Mohou působit na nervový, gastrointestinální i na imunitní systém. Některé vyvolávají po vdechnutí, požití nebo proniknutí kůží stejnou odpověď. U jiných se projevy intoxikace liší v závislosti na cestě vniknutí toxinu do organismu.

V odborném písemnictví není jednotný názor na to, zda toxiny patří mezi biologická, či chemická agens. Kdysi byl saxitoxin a ricin klasifikován jako chemická látka, kdežto jiné toxiny byly podle Dohody o zákazu vývoje, výroby a skladování bakteriologických zbraní a toxinů a o jejich zničení (z r. 1972) klasifikovány jako biologické látky. S ohledem na přehlednost a rozsah článku, je tento zaměřen jen na tři toxiny, považované za nejvýznamnější a nejspíše využitelné pro biologickou válku: botulotoxin, enterotoxin B zlatého stafylokoka (SEB) a trichotecenové mykotoxiny.

Botulotoxin

Pod tímto názvem najdeme sedm příbuzných, ale vzájemně se lišících toxinů, které produkuje bakterie *Clostridium botulinum*. Toxiny označované písmeny A- G produkují různé kmeny této bakterie, mechanismus jejich účinku je však obdobný. Toxin se váže na terminální zakončení presynaptických nervů, čímž brání uvolňování acetylcholinu a blokuje přenos

mezi nervem a svalem. Většinou je botulismus sporadickou nemocí, vznikající po požití nevhodně skladovaných poživatin.

Tab. 1. Charakteristiky toxinů s možným bioteroristickým použitím

Toxin	Účinná dávka	Začátek potíží	Dg test	Terapie	Prevence	Dekontaminace
Botulotoxin	0,001 μg/kg (letální)	2 hod.až 8 dnů	ELISA v nosním stěru, pokus na myši	Trivalentní/heptavaletní koňský antitoxin	Pentavaletní toxoidová vakcína	Standardní postup 0,5 % SAVO ¹
Enterotoxin B <i>Staph.aureus</i>	30 ng (parézy)	2-6 hod.	ELISA v nosním stěru, antigen v moči	Symptomat	Chemoprofylaxe není	Standardní postup 0,5 % SAVO ¹
Trichoteceny	2-12 mg/kg (letální)	3-12 hodin	ELISA v séru a moči ²	Snad aktivní uhlí či kortikosteroidy	Chemoprofylaxe není	Standardní postup 1,0 % SAVO + NaOH

1) = roztok chlornanu sodného

2) = ve vzorcích zevního prostředí plynová chromatografie nebo hmotnostní spektrofotometrie

Diagnostika botulismu

Inhalační nebo alimentární forma botulismu má stejný klinický obraz. Začátek potíží u alimentární formy souvisí s infekční dávkou a pohybuje se od dvou hodin do několika dnů. Často se jako prvé objevují bulbární příznaky, běžné je postižení zraku. K časným příznakům patří neostře vidění, ptóza víček, mydriáza, dvojitě vidění, porucha artikulace, nezřetelná výslovnost a poruchy polykání. Pak následují obrny kosterního svalstva, zpravidla symetrické, postupující progresivně od hlavy dolů, často vedoucí k zástavě dýchání. Obrny nezřídka trvají několik týdnů. Pacient je při vědomí, bez horeček, může pociťovat suchost sliznic a trpí posturální hypotenzí.

Diagnostika inhalační formy botulismu je nesnadná a vychází z klinického obrazu nemoci a řady okolností. Diferenciálně diagnosticky je třeba uvážit hlavně syndrom Guillain-Barrého, myasthenia gravis, poliomyelitis a obrnu po přisátí klištěte.

Laboratorní nálezy jsou nespecifické. Zpravidla nedojde k tvorbě protilátek, protože množství botulotoxinu, vyvolávající projevy nemoci, není dostačujícím imunogenním podnětem. Je možné využít pokusu na myších, který provádí některé specializované laboratoře. Botulotoxin může být také přítomen v chřípí pacienta, který jej vdechl. Zde lze botulotoxin prokázat do 24 hodin po expozici pomocí ELISA.

Terapie botulismu

Musí být intenzivní, spočívá v podpůrné péči a pasivní imunizaci antitoxinem. K dispozici jsou dva druhy antitoxinu, oba jsou připravovány z koňského séra. Ústavy veřejného zdraví mají licencovaný trivalentní antitoxin proti botulotoxinům A, B a E. Americká armáda má ještě pokusný antitoxin, proti všem známým typům botulotoxinu. Každé podezření na botulismus musí být okamžitě hlášeno místnímu zdravotnímu úřadu.

S terapií nečekáme až na potvrzení diagnózy. Časné zahájení léčby může omezit rozsah a závažnost obrn. Materiál pro biologický pokus na myších je nutno odebrat před podáním

antitoxinu. U pacientů by se měla předem zjistit přecitlivělost na antitoxin koňského původu. Antibiotika nehrají v léčení botulismu žádnou roli.

Prevence botulismu

Inhalační formě botulismu lze předejít neutralizačními protilátkami, ať pasivně podanými ve výše uvedeném koňském séru, nebo aktivně nabytými po očkování pentavalentním toxoidem proti typům A až E. Toxoid lze získat od CDC, je bezpečný, ale jeho zásoba je malá.

Dekontaminace

Botulotoxin je rychle ničen působením vyšší teploty a postupně se rozkládá vlivem faktorů zevního prostředí. Exponovaný objekt může být dekontaminován omytím roztokem 0,5 % chlornanu sodného. Botulismu se nepřenáší a nemocné lze ošetřovat obvyklými postupy.

Enterotoxin B *Staphylococcus aureus*

Jeden ze sedmi enterotoxinů, které tvoří *Staphylococcus aureus*- enterotoxin B (SEB) je znám jako častá příčina alimentárních intoxikací. Je to protein stabilní vůči teplu i v aerosolu. Tato stabilita a poměrně snadná příprava činí ze SEB atraktivní látku pro biologickou válku. Na rozdíl od antraxu i botulotoxinu není obvykle účinek SEB letální, spíše se dobře uplatní k vyvolání neschopnosti. Jako bojová látka by byl SEB aplikován asi v aerosolu, možná je však i kontaminace potravin.

SEB působí jako superantigen, aktivuje velký počet T lymfocytů tím, že se váže na molekuly hlavního histokompatibilního komplexu II. Dochází tak k narušení normálního mechanismu rozpoznání antigenu a k nespecifické aktivaci polyklonálních T-lymfocytů. Na rozdíl od reakce na botulotoxin závisí imunitní odpověď na SEB, včetně projevů intoxikace, na formě expozice.

Diagnostika intoxikace SEB

Expozice SEB alimentární cestou vede ke klasickému obrazu alimentární intoxikace s nauzeou a neohorečnatým průjmem. Inhalace SEB vyřadí postiženého z denního života, provází ji horečky, respirační příznaky, bolesti svalů a hlavy. Potíže obvykle začnou během čtyř hodin po expozici a mohou trvat až čtyři dny. Respirační příznaky se zpravidla objeví do 10 hodin po expozici a mají podobu suchého, neproduktivního kašle až dušnosti, ortopnoe a bolesti na prsou. Poslechem lze zjistit praskoty na plicích, horečka může dosáhnout až 41,1 °C. Na rtg snímku plic mohou být známky intersticiálního otoku, ale parenchym není poškozen. Na rozdíl od alimentární expozice po inhalační expozici SEB nevzniká průjem.

Diagnostika intoxikace SEB je obtížná: serologické vyšetření není ani specifické, ani citlivé a v době potíží již toxin obvykle chybí. Je však pozoruhodné, že toxin a jeho metabolity lze po několik hodin od expozice prokázat v moči. Proto by měl být odebrán vzorek moče. Podobně jako u botulotoxinu mohou k diagnostice SEB přispět testy ELISA, nebo polymerázový řetězový test (PCR) v nosních výtěrech, odebraných během 24 hodin po expozici, negativní nález však nevylučuje možnou expozici. Někdy lze najít periferní leukocytózu, ta je však pro intoxikace SEB nespecifická.

Terapie intoxikace SEB

Není žádný antitoxin proti SEB, terapie spočívá v obvyklé podpůrné léčbě, která může obsahovat podávání kyslíku, zavodnění a aplikaci analgetik.

Prevence SEB

K preexpoziční ochraně neexistují vakcíny. Jakýsi účinek u zvířat však měl formalinem inaktivovaný toxoid SEB. Enterotoxin B není přenosný, antibiotika nemají vliv na intoxikaci.

Dekontaminace SEB

K dekontaminaci objektů zevního prostředí se doporučuje 0,5 % roztok chlornanu sodného.

Trichotecenové mykotoxiny

Mykotoxiny jsou produkty metabolismu plísní, které mohou vyvolat onemocnění lidí i zvířat. Již před více než sto lety byla popsána přirozeně vzniklá onemocnění lidí, dnes diagnostikovaných jako mykotoxikózy. Většinou vznikají po konzumaci zaplísňených obilnin, nebo zrní. Zvláště v jihovýchodní Asii se přisuzuje aflatoxinu, produkovanému některými druhy *Aspergillus*, hepatotoxicita a vznik karcinomu jater. Trichotecenový mykotoxin T-2, tvořený rodem *Fusarium*, působí alimentární toxickou aleukii, devastující chronickou nemoc, která ve válečných čtyřicátých letech minulého století usmrtila v Rusku 10 % populace v Orenburgu.

Aflatoxiny i trichoteceny byly užity k přípravě biologických zbraní. Bývalý SSSR měl rozsáhlý výzkumný program zaměřený na použití těchto toxinů k válečným účelům. Jsou náznaky, že po jejich aplikaci v Afganistanu a v jihovýchodní Asii (jako „žlutý déšť“) zemřely tisíce lidí. V nedávné době pracoval, či pracuje, Irák na využití aflatoxinu a trichotecenu, zvláště T-2, k přípravě biologické zbraně.

Výroba trichotecenů je poměrně snadná, stejně jako jejich aerosolizace. Jsou to velmi odolné látky, které neničí ani autoklávování, ani se na světle nerozkládají. Mohou být požity, vdechnuty, nebo vstřebány kůží a sliznicemi. Nízké dávky mohou u exponované osoby vyvolat podráždění, nebo neschopnost denní činnosti, vyšší dávky mohou člověka usmrtit během několika minut. V podobě aerosolu jsou trichoteceny zhruba stejně účinné jako yperit, ale snadněji se vstřebávají kůží.

Toxicita trichotecenů spočívá v několika mechanismech. Nejdůležitější je asi interference s ribosomální peptidyltransferázou, vedoucí k inhibici prodloužení proteinu. Je také známo, že T-2 zvyšuje peroxidaci lipidů v buněčných membránách a narušuje přenos elektronů v mitochondriích.

Diagnostika trichotecenové intoxikace

Její klinický obraz závisí na typu a trvání expozice. Kontaminace kůže má za následek poměrně rychlý vznik erytému, puchýřů a nekrotizace kůže. Po expozici očí může dojít k slzení, konjunktivitidě a k mlhavému vidění. Respirační expozice se projevuje štípáním v nose a epistaxí, pálením v krku, kašlem, dušností a bolestmi na prsou. Dávky blízké hranici letality vyvolávají poruchy gastrointestinálního a krvetvorného ústrojí, poruchy CNS a endotelu. Po expozici „žlutému dešti“ v jihovýchodní Asii se během několika minut objevovala nevolnost, pálení pokožky, letargie a poruchy koordinace. Po několika hodinách zasažené osoby začaly krvácet, kašlat, byly dušné, měly bolesti na hrudi a v břiše, objevil se průjem a puchýře na kůži. Při silné kontaminaci docházelo k extenzivnímu krvácení sliznic, k hypotermii a šoku.

Diagnostika těchto otrav může být těžká. Podezřelé je nahromadění většího počtu osob se známkami otravy, zvláště pokud udávají, že přišly do styku se žlutou, nebo jinak zbarvenou mlhou či kouřem. Trichoteceny lze v materiálu zevního prostředí detekovat chromatograficky, hmotnostní spektrofotometrií, nebo pomocí elektrochemických senzorů. Ve studiích se ukázalo, že trichoteceny a jejich metabolity lze prokázat v moči výše uvedenými metodami, dále také enzymatickou, nebo radiační imunoanalýzou. Vyšetřovací testy se zdají být poměrně citlivé a specifické, nejsou však na trhu.

Terapie

Neexistuje obecně přijatý postup léčby intoxikace trichoteceny. Proto je třeba upřednostnit prevenci a dekontaminaci. Na modelových zvířatech byly získány s některými přípravky nadějně výsledky. Myši léčené do 1 hodiny po orální, nebo subkutánní expozici toxinu T-2 infuzí aktivního uhlí do žaludku, přeživaly významně častěji. Zdá se, že tento postup může vést k přerušení enterohepatální recirkulace T-2. V několika studiích bylo také zjištěno delší přežívání zvířat po podání velké dávky kortikosteroidů.

Prevence

Protichemická pláštěnka může kůži účinně chránit před expozicí. K ochraně před inhalací je vhodná obličejová rouška, která zadržuje částice o velikosti 3-4 nanometrů..

Dekontaminace

Využívají se standardní dekontaminační postupy při expozici chemikáliím, nebo toxinům. Omytí kůže mýdlem a vodou může významně snížit jejich vstřebávání, a to i za 4-6 hodin po expozici. Obuv, oděv a předměty se dekontaminují do 6 hodin po expozici pomocí 1 % roztoku chlornanu sodného, smíchaného s hydroxidem sodným.

Souhrn a závěr

Toxiny vyvolávaná onemocnění trápí lidi celá tisíciletí. Toxiny však lze užít i ku prospěchu člověka. Bohužel, dnešní realitou je použití biologických látek jako zbraní teroristů a odlišení sporadických, přirozeně vzniklých intoxikací, od teroristické akce představuje závažný úkol pro zdravotnictví. Klíč ke včasnému rozpoznání napadení je ve vzdělávání lékařů první linie styku s pacienty a pracovníků ochrany veřejného zdraví.

19 citací, kopie v archivu odd. epidemiologie KHS Ostrava

Poznámka překladatele

Teroristický útok na New York dne 11. 9. 2001 a krátce na to záškodnické rozšiřování antraxu v USA vedlo Američany k nebývalému financování projektů ochrany před biologickými zbraněmi. Pro rok 2003 je ve státním rozpočtu na tento účel plánováno 6 miliard USD. Další miliony jdou na zvýšení zásob vakcín a antibiotik, na budování specializovaných laboratoří a ústavů. Národní ústav pro alergické a infekční nemoci (NIAID) uveřejnil letos v březnu zprávu, v níž se zaměřil na ochranu před šesti bojovými biologickými prostředky s největší pravděpodobností použití: variola, antrax, mor, tularemie, botulotoxin a viry vyvolávající hemoragické horečky (Ebola, Marburg, Lassa).

V době útoku 11.9. měli Američané k dispozici jen 15 milionů dávek vakcíny proti variole. NIAID zjistil, že pětinasobně zředěná vakcína je rovněž dostatečně účinná, takže v nouzi by bylo možné ochránit více lidí (až 77 milionů). Firma Aventis Pasteur ohlásila, že má ještě zásobu 75-90 milionů dávek vakcíny. Koncem roku 2002 budou mít USA dalších 200 milionů dávek vakcíny, čerstvě vyrobené novými technikami na buněčných kulturách. Měla by být bezpečnější než dosavadní vakcína. Také ochrana před antraxem je úspěšně řešena novými postupy. Např. objevili receptor, na který se váže toxin při vstupu do buňky, popsali trojrozměrnou strukturu toxinu, včetně jeho aktivních míst, což umožňuje vynalézt látku, která potlačí účinek toxinu. Vynalezli enzym, který rozkládá buňky *Bacillus anthracis* a tak je rychle zničí. Nová DNA vakcína proti viru Ebola ochránila pokusné opise před letální dávkou viru. Během několika měsíců si troufají začít s ověřováním bezpečnosti vakcíny u lidí. Jistě se dostaví po finančních injekcích další objevy, které budou využitelné i k čistě mírovým účelům. (*Lancet, Vol 360, 2002, č. 9335, s. 732*)