

VÝZKUM OCHRANY PROTI BIOLOGICKÉ VÁLCE V USA

Podplukovník MUDr. Josef VANČUŘÍK, CSc.

Předložený referát byl zpracován na základě článků v dostupné odborné zdravotnické literatuře a týká se jen koncepce obrany proti biologické válce. Nemůže si přirozeně činit ani nárok na úplnost.

Výzkum ochrany proti BBP v USA je široce založen a na stanovení programu se aktivně podílejí nejen vojenští odborníci, ale také významní specialisté civilních výzkumných a univerzitních institucí. Nesporné úspěchy USA mimo jiné spočívají zřejmě i v jasném, přesně promyšleném a dlouhodobém plánu výzkumu, řízeném centrálně, takže řešení základních tematických úkolů není ponecháno jen na libovůli a iniciativě jednotlivých vědeckých pra-

covníků. Program obsahuje témata krátkodobá, která lze vyřešit během několika málo let, ale současně i dlouhodobé pracovní úkoly rázu základního výzkumu, jejichž řešení si vyžádá přirozeně i několik desítek let (program antigenní frakcionace při přípravě účinných chemovakcín, výzkum otázek nespecifické rezistence, metody detekce infekčních agens přímo v krvi nemocných). „Lze tedy říci, že poměrně snadné problémy si při zpracování vyžadují další řešení základních mechanismů imunitní odpovědi“ (Edsall v Epidemiologickém výboru ozbrojených sil 1963).

Této koncepci odpovídá i organizační řešení výzkumných obranných témat, které se provádí

v armádních střediscích (U. S. Army Medical Unit, Fort Detrick-Walter Reed Army Medical Center Washington — Naval Medical Center, U. S. Army Biological Laboratories) bohatě vybavených (např. Fort Detrick má pro případ potřeby i hospitalizační možnosti pro zvláštní a nejasné případy onemocnění), ale současně i za pomoci výzkumných středisek univerzitních a jiných na podkladě centrálně zadávaných úkolů (granty). Pomocí grantů se intereso-ují civilní pracovníci zejména na řešení úkolů teoretického výzkumu, které armáda svými odbornými kádry nestačí zajistit (výzkum komplementu, rozvoj imunochemických metod při frakcionaci antigenů a v imunodiagnostice z větší části i imunofluorescentní metody). Je zajímavé, že při hledání spolupracovníků naráží armáda často na odpor motivovaný odmítavým etickým postojem vědeckých pracovníků k problémům biologické války. Armádní pracovníci však argumentují tím, že nebezpečí biologické války je reálné, nelze se mu vyhnout a je tedy třeba k němu přistupovat bez před-
sudků.

I. Obecné představy o biologické válce

Koncepce obrany je přirozeně ovlivněna představami o pravděpodobném průběhu biologické války. Američané tvrdí, že biologická válka by měla spíše strategický než taktický význam a předpokládají rozsáhlé použití BBP spíše proti zázemí než proti bojujícím armádám. Počítá se se zamořením území o rozsahu několika set čtverečních kilometrů pomocí aerosolů s využitím vhodných vzdušných proudů. Cituji tento příklad: jestliže se rozšíří agens s nízkou infekční dávkou pro člověka (méně než 100 zárodků), u něhož nedochází k disociaci mezi viabilitou a virulencí, při optimálních meteorologických poměrech (vlhkost, směr větru, rychlost 20 km za hod., při převládající inverzi), asi ve výši 100 m, v pásmu dlouhém 50 km, o půlnoci — 10 % materiálu je v částicích o průměru 5 mí, dojde k výstupu mraku do 200 m a za 6 hod. může být zamořeno území 6000 km² v koncentraci 1,5 lidské infekční dávky. Podle těchto představ nebude rozdíl v zasažení mezi civilním obyvatelstvem a vojskem. Při zamoření pobřežního pásma New York — New Jersey by bylo postiženo mnoho tisíc až miliónů průmyslových dělníků, a to by bylo důležitější pro ochromení válečného potenciálu než vyřazení několika bojujících pluků. Vývoj vhodné protiepidemické ochrany je stejně důležitý jak pro armádu, tak i pro civilní obyvatelstvo. Jestliže armáda provádí výzkum ochrany proti BBP, uskutečňuje jej i v zájmu civilního obyvatelstva. To je také argument Američanů při získávání nevojenské spolupráce na programu výzkumu BBP.

Výzkum aerosolů. Takovou představou je přirozeně ovlivněn i podrobný výzkum biologických aerosolů a pozornost se věnuje především těmto otázkám:

1. Možnosti detekce aerosolu a způsob identifikace infekčního agens.
2. Šíření aerosolu jako fyzikálních částic.
3. Biologické chování aerosolu (physical and biological decay).

Získávají se přesné údaje o chování aerosolových partikulí vlivem velikosti, sedimentace, shlukování a zředění částic a zejména vliv atmosférických podmínek na částice — teplota, vítr a vertikální proudění vzduchu, které určuje výstup aerosolového mraku. Ale za dosud nedostatečně probádané považují chování aerosolů z hlediska biologického, zejména přežívání mikroorganismů v aerosolu. Jde především o význam kvality média použitého při rozprašení po přežití a v některých případech i pro ovlivnění virulence (infekcióznita antraxových spór se snadno zvýší přidáním některých látek snižujících povrchové napětí, ev. některých fosfolipidů). Znalosti o účinku slunečního světla na přežívání jsou zatím kusé. Některé mikroorganismy jsou tak citlivé, že doba přežití v aerosolu je omezena pouze na noc a napadení aerosolem přichází v úvahu pouze v noci. Stejně vliv vlhkosti je znám jen u některých mikroorganismů — C. burnetii snáší velmi dobře vysušení, a proto je vhodná k biologické válce. Za zvlášť důležitou se považuje otázka **disociace mezi životaschopností a virulencí** mikroorganismu v zevním prostředí aerosolu. Pokusy na lidských dobrovolnících s tularemickým aerosolem ukazují, že jeho infekčnost klesá stářím aerosolu (byla jiná infekčnost u aerosolu starého 30, 60, 120 a 180 minut), ačkoli počet inhalovaných buněk je stejný. Měnila se i inkubační doba. K podobným závěrům se došlo i u aerosolu P. pestis. Zda tento významný degradující faktor platí i pro ostatní patogény v aerosolu, není známo. Za důležité se považuje doplnit tyto prozatím neúplné poznatky v systematickou znalost o všech zárodcích, které při biologické válce přicházejí v úvahu.

Uvažuje se samozřejmě i o jiných cestách napadení — zamoření potravin a vody a použití členovců buď jako mechanických přenašečů nebo biologických vektorů. Jako hlavní opatření obrany se uvádí: 1. detekce vektorů, 2. sbírání infikovaných vektorů, 3. jejich určení, 4. zamezení dalšího šíření. Základním vybavením je odběrová souprava „Arthropod Vector Field Survey Kit“ vyvinutá ve Fort Detricku, která umožňuje odběr a uschovávání členovců, zvlášť i dohromady, usmrčených i živých, i přístroje nutné k jejich identifikaci. Věnuje se pozornost určení rezistence na insekticidy a výzkum možností v použití insekticidů.

Volba infekčního agens. Američtí vojenští činitelé nepodceňují ani význam biologické války pro bojující armádu. Vycházejí z vlastních zkušeností z korejské války, kdy infekční choroby — i v éře antibiotik — způsobily několikrát větší nebojeschopnost amerického vojského personálu než válečná poranění. Zvlášť těžce probíhala epidemie dálně východní he-

moragické horečky endemické ve východní Asii. (Nechybí ani narážky, že rozšíření této infekce by mohlo být způsobeno úmyslným činem protivníka.) Neobyčejné rozšíření však přičítají té okolnosti, že infekce probíhala na imunologicky naprosto nepřipraveném terénu, neboť tato nemoc se mezi obyvatelstvem USA nevyskytuje. Jsou i jiné příklady: bělošský personál, který přichází do Afriky, velmi snadno onemocní horečkou Chikungunya a O'Nyong-nyong, ačkoli onemocnění domácího obyvatelstva je vzácné. Proto se zdůrazňuje nutnost studia exotických nemocí a za zvlášť důležité úkol se považuje příprava účinných očkovacích látek proti nim (např. Venezuelan equine encephalitis, Rift Valley Fever), neboť americká armáda operuje v nejrůznějších částech světa. Použití infekcí, proti kterým není v zasažené populaci přirozená obrana, by bylo velmi účinné. Civilní obyvatelstvo bude např. ohroženo tetanickým toxinem víc než vojsko. Proto se za potenciální BBP považují i takové infekce, které v endemických oblastech vyvolávají jen lehčí, málo kontagiózní onemocnění. Je možné, že histoplazmóza a kokcidiodomykóza by mohly probíhat mimo endemická území daleko závažněji a s vyšší kontagiózitou. Jako hlavní podmínky, aby některý mikroorganismus se stal biologickou zbraní, požadují, aby zárodek byl 1. vysoce infekční, 2. dobře vyrobitelný ve velkém rozsahu, 3. stabilní, 4. vhodný k aerosolizaci, 5. snadno transportabilní.

V současné době jsou předmětem studia zejména tyto zárodky: *P. tularensis* a *P. pestis*, *Brucely*, *B. anthracis*, *Vibrio cholerae*, VEE, Rift Valley fever, *C. burneti*, viry psitakózy, varioly, *R. Tsutsugamushi*, dengue, též tyfus a tetanus. Všechny infekce nejsou zkoumány jen z aspektu biologické války, ale též proto, že vojenský personál USA je rozptýlen po celém světě v nejrůznějších epidemiologických podmínkách.

V publikovaných člancích však velmi často najdeme názor, že použití izolovaného infekčního agens je málo pravděpodobné a že se musí počítat téměř se 100% jistotou, že by bylo použito smíšené infekce. Uveřejněných prací v tomto oboru je pochopitelně málo, jsou spíše k dispozici výsledky anglických pracovníků z Portonu. Nejčastěji se uvažuje o kombinaci virového agens — chřipky — s některými bakteriemi, neboť je známý aktivující účinek chřipky na infekce stafylokokové, streptokokové a hemofilové, stejně jako neblahý provokující účinek na latentní plicní tuberkulózu. V pokusech s myši z chovu běžně promořeného *Pasteurella pseudotuberculosis* a *Hemophilus influenzae murium*, které dostaly intranazálně chřipkový virus, vznikly purulentní bronchopneumonie pouze v těch skupinách myši, ze kterých se mohl vyizolovat jeden nebo oba z citovaných mikrobu. Byla provedena studia, která ukázala, že plicní parazitární léze u opic *Macaca* mají velmi významnou úlohu v patogenезi inhalačního antraxu. Jsou také zprávy, že *B. anthracis* u ovcí se současnými lymfa-

tickými lézemi, způsobenými předchozí infekcí *Corynebacterium ovis*, se dobře pomnožuje a způsobuje onemocnění velmi snadno. Ale zvířata, která toto prodělala před infekcí, byla schopna přežít při infekci *B. anthracis* i množství spor, dostatečné pro usmrcení těch opic, které před tím nebyly infikovány *C. ovis*. Neobyčejně instruktivní jsou pokusy provedené v anglickém Portonu. Myši byly inhalovány adaptovaným asijským typem chřipky a spory *B. anthracis* v různých časových kombinacích. Ve všech případech se vysoce zvýšila vnímavost myši k antraxu a trvala po dobu 35 dní po infekci, když již nebyly dávno patrné žádné histologické deskvamace plicního epitelu jako důsledek chřipky. Antraxové spory dlouho přežívají v plicích a v populaci pokusných zvířat vyvolávají ojedinělá uhynutí i za dlouhou dobu po infekci. Nákaza chřipkovým virem v takových skupinách myši vždy aktivovala dřímající infekci. Penicilínová terapie za podmínek smíšené infekce byla daleko méně úspěšnější než terapie pouhého antraxu. Stejných výsledků bylo dosaženo i při současné naze chřipkovým virem a *Brucella suis* — zvýšení smrtelnosti pokusných myši a téměř až 100násobně vyšší pomnožení *B. suis* v plicích.

Některé experimentální výsledky ovšem také ukazují, že není vždy jen synergismus mezi infekcemi, ale i antagonismus — to záleží zejména na patogeneze onemocnění. Často není žádných patrných vztahů mezi oběma infekcemi.

Použití smíšených infekcí ovšem značně bude ztěžovat detekci, diagnostiku onemocnění i imunizační program.

Velmi často se vyskytují úvahy, do jaké míry je možné genetickými manipulacemi připravit úplně novou chorobu. Cituji doslova: „Znalosti genetiky mikroorganismů se podstatně rozšířily během několika posledních let a je velmi nejisté stanovit nějaké hranice změn, které mohou být vyvolány ... příprava rezistence na antibiotika je běžná a jednoduchá záležitost ... je jisté možné produkovat významné změny v potencionálních organismech biologické války.“ Zatím ovšem termín „nové infekce“ platí pouze pro neběžné exotické choroby nebo atypicky probíhající smíšené infekce. Genetických prací se publikuje málo, ale prací patogenetických na biochemické a buněčné úrovni je mnoho. I když zřejmě jejich hlavním cílem je získat znalosti o základních faktorech virulence a nespecifické odolnosti, jež jsou nezbytné pro přípravu účinných chemovakcín a ev. izolaci látek podporujících obranné schopnosti hostitele, mohly by být získané poznatky snadno zneužity i k jiným účelům.

II. Hlavní zásady obrany

Za nejúčinnější způsob ochrany proti biologické válce považují američtí pracovníci specifickou imunizaci. Imunizační program a výzkum se klade na první místo a vedle běžných prak-

tických problémů obsahuje i otázky základního rázu, které si budou nesporně vyžadovat velmi dlouhodobého řešení. Příkladem je příprava účinné chemovakcíny proti antraxu, jejíž vývoj soustředil řadu pracovníků a trval více než 15 let. Snad je tento ráz výzkumu ovlivněn i tou okolností, že na jeho programu pracují i někteří významní civilní specialisté-imunologové, kteří jsou i experty WHO (Edsall). Na formování koncepce imunizačního programu se podílí i imunologické oddělení Walter Reed Army Medical Centre.

Chtěl bych se zmínit nejprve o ideální představě optimálního stavu. V obraně proti biologické válce nejlogičtějším opatřením by bylo podat multiantigenový preparát obsahující vhodné dávky různých antigenů předpokládáných infekcí, možná v hladině, která by zajistila spíše základní imunologickou přípravu organismu než aktuální imunitu. Toto malé množství velkého počtu antigenů by se mohlo aplikovat i v adjuvans, jež by značně mohlo zvýšit imunizační sílu jednotlivých antigenů. V případě ohrožení infekčním agens by se mohla uskutečnit specifická vakcinace, která jako sekundární podnět by zajistila vytvoření dostatečné imunity během několika málo dní a někdy i hodin.

Takový program si však vyžaduje přípravu chemicky čistých antigenů, které mají skutečný význam v patogenezi infekce a stimulací tvorby protilátek proti nim zajišťují efektivní obranu. Živé vakcíny představují směs několika desítek bezvýznamných antigenů, které při imunizaci zbytečně zatěžují. V experimentálních studiích nadměrné množství antigenního materiálu může vyvolat léze typu periarteritis nodosa nebo i kolagenózu. U mnoha infekcí však antigeny, které přicházejí v úvahu v rozvoji infekce, nejsou známy a mnohé se pro svou labilitu vytvářejí a uplatňují teprve v rozvoji vlastního infekčního procesu. Proto program přípravy a purifikace účinných antigenů si vyžaduje podrobné patogenetické studie na biochemické a buněčné úrovni přímo v interakci mezi mikroorganismem a hostitelem, ev. s jeho obrannými mechanismy (fagocyty). Studiu tohoto druhu se věnuje velká pozornost ve Fort Detricku i anglickém Portonu. Provádí se rozsáhlá antigenní frakcionace mikrobiálního materiálu získaného in vivo i in vitro a věnuje se pozornost novým metodám fyzikálně chemické frakcionace, často pomocí grantů ve spolupráci s civilními institucemi. Podporuje se rozvoj imunochemických metod (imunochromatografická separace na Sephadexech a iontoměničích) a izolace a chemická charakterizace bakteriálních buněčných stěn, jejich elektronoptické studie i výzkum extracelulárních faktorů vytvářejících se v průběhu infekce. Věnuje se pozornost možnosti inaktivace nukleových kyselin virů s možností získat nepoškozené a bezpečné antigeny.

Studie tohoto typu mají svůj mimořádný význam. Byla připravena účinná chemovakcína

proti antraxu — ukázalo se však, že běžně připravený protektivní antigen nechrání proti některým kmenům *B. anthracis* a zkoumá se příčina tohoto jevu. Protože nová vakcína dává jen krátkodobou imunitu, byly studovány adsorbované vakcíny. Ochranný účinek dosavadní morové vakcíny je malý. Další pokrok v této otázce bude záviset na základních mechanismech imunní odpovědi u moru, a proto se studují morové toxiny. Sleduje se antigenní skladba různých kmenů *Vibrio cholerae* a možnost přípravy účinné chemovakcíny z brucel, varioly, *C. burnetii*, leptospir. Příkladem přístupu k řešení přípravy vhodných antigenů pro imunizaci je práce s tyfovou vakcínou provedená ve Walter Reed Army Medical Center ve spolupráci s akademickými institucemi. Ukázalo se, že i když je Vi antigen faktorem virulence pro myši, nemusí mít u člověka stejný význam. Např. zvířata infikovaná pouze kmeny bez Vi antigeny jsou chráněna při následné infekci Vi kmenem. Stejně výsledky byly získány i na lidských dobrovolnících, u nichž pro perorální nákazu bylo třeba 10^8 – 10^9 zárodků. Jako vhodný experimentální model byli získáni šimpanzi, které lze nakazit per os dávkami 10^9 mikrobů. Výsledky ukázaly podstatný význam hyperreaktivity cévního systému při onemocnění i celkem druhořadý význam Vi antigenu ve vzniku choroby. I když tyto výzkumy neobjasnily plně podstatu virulence *S. typhi*, mohla být započata separace purifikovaného O antigenu chromatograficky pro přípravu chemovakcíny, která zajišťuje dostatečnou imunitu a v terénních pokusech se ukázala jako dobrá.

Účinný imunizační výzkumný program si však vyžaduje i nutnost vyvinout snadno reprodukovatelné metody protektivních testů in vitro, jejichž výsledky by byly v korelaci se skutečnou imunitou měřenou nákladnými a časově náročnými pokusy na zvířatech. Takovým metodám se věnuje velká pozornost s ohledem na přípravu vhodného antigenu i metodiku sérologické reakce in vitro. Byly např. vypracovány precipitační reakce a vazba komplementu při hodnocení imunity proti antraxu a tularémii, současně s vhodným antigenem. I když výsledky u tularémie byly dosud neuspokojivé, má výzkum vhodných laboratorních testů i svůj význam diagnostický.

Program polyvalentní vakcinace, z hlediska ochrany proti biologické válce velmi výhodný, předpokládá ovšem studium možností vzájemné kombinace antigenů z hlediska jejich konkurence při imunizaci. Proto se zdůrazňuje nutnost experimentálních prací o kombinované imunizaci s nejvhodnějším poměrem antigenů, jejich stabilitou a změně imunologické reaktivity organismu vzhledem k následnému sekundárnímu podnětu.

Slabá imunitní odpověď v kombinovaných antigenních preparátech může být někdy zvýšena i použitím vhodného adjuvans. Proto se považuje za důležitý i úkol studia a vývoje efektivního a bezpečného adjuvans, které

na rozdíl od Freundova adjuvans by bylo bez možných karcinogenních a alergizujících účinků u člověka.

Za důležitý úkol se považuje i studium aplikační cesty imunizačního agens, ve shodě se světovým vývojem imunologie (směrnice WHO). Zkušenosti s perorálním očkováním živým Sabinovým virem ukázaly superioritu přirozené cesty podání atenuované vakcíny, která tím, že přichází do kontaktu s buňkami nebo tkáněmi, kde i u vlastního infekčního procesu dochází k multiplikaci, vytváří solidní imunitu a současně brání i epidemickému šíření mikroorganismů. Byla proto, podobně jako v SSSR, zahájena studia s inhalační imunizací u tularémie a VEE s dobrým výsledkem a byl zkonstruován i pojízdný autobus k praktické imunizaci na použití inhalátorů. Byla vyzkoušena perorální aplikace střevní multivakcíny v tabletách s dobrým úspěchem.

Věnuje se také pozornost i bezprostředním praktickým úkolům. Např. při masové imunizaci hrozí vždy nebezpečí přenosu sérové hepatitidy; aby byla možnost přenosu vyloučena a také aby byla umožněna vysoká imunizace velkých kontingentů, byl vyvinut injektor, pomocí kterého se vakcína protlačí přes kůži pod vysokým tlakem a infiltruje podkožní tkáň.

Zdůrazňuje se nutnost vývoje takových vakcín, jejichž použití by bylo bez komplikací. Horečka po tyfové vakcíně je např. bez významu při imunizaci malého počtu lidí, ale při masovém použití může vyřadit několik tisíc lidí na den z pracovního procesu.

Příprava purifikovaných antigenů je ovšem úkol dlouhodobý. U infekcí, kde vakcíny dosud neexistují, zejména exotických, nebo jsou nevyhovující, se připravují atenuované, živé vakcíny. Byla vyvinuta živá vakcína proti VEE a provedeny rozsáhlé pokusy na ověření její účinnosti, studovány vhodné kmeny pro přípravu vakcíny proti dengue, horečce Skalístých hor, Rift Valley fever, západní i východní koňské encefalitidě, ruské jaroletní encefalitidě, japonské encefalitidě, rabies a shigelózám. Při vývoji nových vakcín se požaduje, aby byly vyrobitelné ve velkém množství a zejména snadno skladovatelné i při vysoké teplotě tropů. Podrobují se revizi imunizační schémata u vakcín v běžném použití a na podkladě pokusů byly přepracovány imunizační postupy u cholery a tetanu.

Za zvlášť žádoucí a důležitý se považuje výzkumný program využití aktivní imunizace jako léčebného postupu v inkubační době infekční choroby. Choroba může být tímto postupem modifikována nebo i zvládnuta — např. variola a rabies. Byly provedeny pokusy s léčebným použitím vakcín u antraxu, Q horečky a tularémie a ve většině pokusů byla infekční choroba skutečně abortivní a mohl tak být potvrzen příznivý účinek, zejména pro omezení možnosti pozdních relapsů začátku choroby, ke kterým dochází téměř vždy, jestliže již od začátku choroby se prováděla antibiotická profylaxe, kte-

rá potlačila rozvoj imunitních reakcí. U některých chorob je třeba postupovat opatrně vzhledem k negativní fázi tvorby protilátek. Za důležitý předmět studia se považuje zjištění, u kterých antigenů se negativní fáze skutečně uplatňuje.

Možnosti nespecifického zvýšení odolnosti proti infekcím jsou rovněž ve středu zájmu, protože by přicházely v úvahu zejména v těch velmi častých situacích, kdy je známo, že k biologickému napadení došlo, jednotka je ohrožena, ale agens nebylo identifikováno. Výzkum v této oblasti je velmi obtížný, má ráz základního výzkumu a je řešen převážně ve spolupráci s civilními výzkumnými ústavy. Američtí pracovníci považují za nejnadějnější cestu studium některých složek séra, zahrnutých do systému přirozené obrany, zejména komplementu. Využívá se zjištění, že komplement séra má významnou úlohu v rezistenci a při překonávání infekce. Jedna výzkumná skupina je zapojena do tohoto dlouhodobého úkolu a pracuje na frakcionaci, purifikaci a zjištění všech čtyř složek komplementu. Bylo dosaženo jistého úspěchu v bádání o C_1 za použití chromatografické separace složek. Pozornost se věnuje ovšem i jiným tkáňovým a sérovým složkám — povaze protilátek se širokým rozsahem specificity (skupina „properdinu“ a přirozených protilátek), lysozymu, extraktům z fagocytů (fagocytin) a interferonu, který může hrát důležitou roli v protekci proti virovým infekcím. Faktory přirozené rezistence (tkáňové a buněčné extrakty) mohou mít velký praktický význam. Cituji: „(nespecifická rezistence) je studijní oblast, od které lze očekávat nejvíce pokroků při kontrole infekčních chorob a porozumění mechanismů infekce“ (plukovník W. D. Tigertt). Podobným směrem se ubírá i výzkum v anglickém Portonu, který v této oblasti je velmi pokročilý.

Chemoprofylaxe. Použití antibiotik v profylaxi infekčních chorob má své oprávnění, jak ukazují dobré výsledky při prevenci streptokokových nákaz v míru. Stejně je užitečná i antibiotická profylaxe v případě biologické války, pro kterou však se předpokládají tyto hlavní zásady. Požaduje se přesná diferencovaná profylaxe podle předchozího zjištění citlivosti a identifikace. „Bylo by nepraktické, škodlivé a nebezpečné použít střelení naslepo (shot gun approach) antibiotiky a podrobit kohokoli léčbě při nebezpečí biol. napadení“ (R. Blount, D. Crozier). Je rozdíl léčit směsí antibiotik několik lidí nebo velké množství infikovaných již s ohledem na neúnosnou spotřebu antibiotik. Účelná je jediné diferencovaná aplikace různě ohrožených skupin lidí, především u zdravotnického personálu. Nedoporučují se injekční preparáty pro nebezpečí přenosu sérové hepatitidy a navrhuji především použít širokospektrových perorálních antibiotik. Také se nesmí přehlížet ani možnost použití rezistentních kmenů a smíšených infekcí virus-bakterie. Antibiotická profylaxe je nejspíše indiko-

vaná u jednotek, které plní úkol, který nemohou přerušit, a teprve po skončení bojového úkolu je jednotka stažena a profylaxe vysazena. Jako hlavní úkoly výzkumu uvádí:

1. Vypracování metod rychlého stanovení citlivosti — nejvíce se osvědčuje mikrokultivace na sklíčku, kde pod mikroskopickou kontrolou lze u většiny mikrobu odečíst výsledek citlivosti za 4 až 6 hodin.

2. Vypracovat profylaktická schémata u všech infekcí, které přicházejí v úvahu jako biologická zbraň a u nichž lze použít antibiotika, neboť u různých infekcí se výsledky profylaxe mohou lišit v závislosti na dózování nebo aplikačním schématu, na cestě infekce nebo volbě antibiotika. Lze např. provést prevenci onemocnění R. tsutsugamushi chloramfenikolem, ale nelze mu předejít, jestliže antibiotikum se podává v běžných denních dávkách jako při léčbě. Naopak při prevenci je efektivní intermitentní aplikace 3 gramy denně každý čtvrtý den v 5 nebo 6 dávkách. Při dodržení tohoto schématu lze zabránit vzniku klinické choroby. Naproti tomu u Q horečky je třeba denní aplikace. Obě infekce mohou být zvládnuty stejným antibiotikem, ale aplikovaným v odlišném schématu. Naproti tomu u tularémie má širokospektré antibiotikum jen nepatrný účinek, ale vysoce efektivní je aplikace streptomycinu. Výsledky profylaxe závisí i na správném načasování. U moru a antraxu je nutné zahájení léčby do 24—36 hodin, jinak nemocný umírá na toxémii i při úplném zničení infekčního agens. Naopak u jiných infekcí — Q horečky, tularémie, příliš časně nasazení antibiotik potlačí rozvoj specifické imunity natolik, že po vysazení antibiotika vznikne recidiva. Totéž je i u inhalčního antraxu. Proto se považuje za účelné

3. zkoumat účinek a možnosti současné antibiotické profylaxe a specifické imunizace, ev. aplikace séra v počátečních obdobích infekce. Zvláštní poměry mohou nastat u smíšených infekcí — virus-mikrob. Virové agens, které neodpovídá na specifickou terapii, v kombinaci s bakteriálním agens způsobujícím onemocnění s vysokou mortalitou při nedostatečném léčení a s inkubační dobou, která spadá právě do doby uzdravování z virové choroby, může mít za následek vážné zpoždění v zahájení správné terapie.

U infekcí, které neodpovídají na antibiotickou terapii (virózy) se studuje možnost přípravy a použití specifického séra nebo gama globulinu. Byla např. sledována a ohodnocena terapie hyperimunním sérem při infekci VEE a provedeny histologické srovnávací studie.

Detekce, identifikace a diagnóza

Těmto otázkám se věnuje rovněž bedlivá pozornost a některé názory amerických pracovníků nejsou bez zajímavosti. Za odběr vzorků a nespecifickou detekci v těchto prvních etapách odpovídá chemická služba (CBR - Chemi-

cal, Biological, Radiological Specialists) a za specifickou identifikaci odpovídá zdravotnická služba. Řídí se zásadou, že veškerou snahou je třeba usilovat o určení mikroorganismu ještě v zevním prostředí, dříve než vznikne epidemie. Citují „zjištění, že došlo k útoku biologickou zbraní a téměř současná identifikace agens by byla ideální situací (plk. A. J. Rapalski)“. Ovšem od takového ideálního stavu k reálné skutečnosti bude často velmi daleko a sami předpokládají, že ve velké většině případů by vznikla epidemie dříve, než by bylo agens identifikováno nebo než by se vůbec zjistilo, že k napadení došlo (diverse). Rozhodujícím opatřením by v těchto případech byla včasná klinická diagnóza. Rychlé a perfektní diagnóze věnují nesmírnou pozornost. Za tímto účelem se provádí i výchova a instruktáž lékařského personálu. „Je důležité, abychom zvýšili znalosti těch infekčních chorob, které nejsou ve středu zájmu lékařské služby naší země, ale které by mohly mít velký význam pro naše ozbrojené síly operující ve vzdálených krajích světa nebo i pro celou populaci, v případě útoku mikroorganismy, které se dříve v této části světa nevyskytovaly“ (gen. mjr. T. J. Hartford). Domnívají se však, že pro včasnou diagnózu by byly rozhodující výsledky laboratorní spíše než klinická diagnóza. Proto také vrcholná referenční laboratoř polní armády — Army Medical Laboratory (TOE 8-650), která provádí i identifikaci agens v zevním prostředí, se zřizuje v blízkosti velké vojenské nemocnice, kterou zabezpečuje personálem se speciálním školením v infekčních chorobách. Má možnost provádět inokulace embryí i tkáňové kultury, možnosti očkování zvířat i speciální serologické oddělení. Rozpracovávají se však nejen metody mikrobiologické a imunologické diagnostiky, ale všech diagnostických postupů.

Studují se fyziologické změny vyvolané infekční chorobou, které by rychlou detekcí metabolických změn nebo enzymů, které se uvolňují v tkáních, mohly přispět k rychlé diagnóze. Uvádím některé výsledky nedávného výzkumu: u opic infikovaných žlutou zimnicí bylo zjištěno, že s nástupem horečky prudce stoupají sérové transaminázy (GOT a GPT) — jejich stanovení je tedy významné pro včasnou diagnózu. U VEE byl sledován velmi podrobně elektroencefalografický záznam z různých částí mozku (opice) a hledány typické změny EEG. U antraxu byla zkoumána rovněž řada biochemických změn i EKG. Pro praktickou diagnózu má zjištění prudkého poklesu trombocytů (spojené s poklesem baktericidní účinnosti séra).

Rychlá bioptická diagnóza. Histologové ve Fort Detricku zkoumali bioptické nálezy jater u žluté zimnice a našli charakteristické acidofilní hyalinní nekrózy Kupferových buněk. Zdůrazňuje se nutnost výcviku patologů v bioptické a nekrotické diagnostice infekčních chorob.

Rentgenová diagnostika nitrohruďních nálezu: protože většina biologických útoků by byla

ve formě aerosolů, byly by první projevy nemoci pneumonie. Byly zpracovány rentgenogramy pneumonií při tularémii, moru, antraxu, rickettsiózách, psitakóze, chřipce i mykotických onemocněních. Rtg. diagnostika je však pouze podpůrná a užitečná v souboru s ostatními klinickými a laboratorními nálezy.

Možnostem rychlé identifikace infekčního agens se přirozeně věnuje velká pozornost. Diagnostické postupy v identifikaci organismů ze zevního prostředí i z nemocného jsou v principu stejné, liší se však metodami nezbytného určování agens. Jsou-li tyto metody při detekci mikroorganismů v zevním prostředí provedeny dostatečně účinně, bez nároku na předběžnou kultivaci, mohou podstatně zkrátit dobu určení diagnózy. Používá se různých typů impingerů, ale jako nejefektivnější se osvědčil kaskádový impaktor umožňující zachycení organismů na skličku. Takto zkoncentrované organismy mohou být potom identifikovány imunofluorescencí. V laboratorních podmínkách byla detegována přítomnost 1 tularemického mikroba v 5 litrech vzduchu a stejně úspěšné byly i pokusy s detekcí viru VEE.

Organizace a výzkum rychlé diagnostiky bakteriologické i virologické představuje především různé modifikace klasických postupů. Hlavní možnosti podle amerických autorů jsou:

1. Mikrokultivace na skličkách — předběžná diagnóza po inkubaci ve vlhké komoře na základě funkčních vlastností, morfologie mikrokolonií, ev. i fluorescentního barvení, je možná za 4 až 6 hodin.

2. Vývoj selektivních půd nutných zejména pro kontaminovaný materiál ze zevního prostředí (antrax).

3. Studium růstových stimulátorů a konstrukce nových půd (tularémie).

4. Mikrobiobiochemické a sérologické metody identifikace, studium typizace bakteriofágy a ověření jiných diagnostických postupů.

5. Byly přezkoušeny metody v růstu titru bakteriofágy — je to citlivá, ale náročná metoda, ale hlavní podmínkou úspěšného výsledku je dostatečné množství mikroorganismů ve výchozím materiálu. Na neštěstí materiál od pacientů má v sobě často málo mikrobů (tularémie).

Tyto metody, jejichž přezkoušením se zabývá Oddělení fyzikální ochrany ve Fort Detricku, jsou shrnuty v jednotné instrukce: *Recommended Procedures for the Identification of Pathogenic Microorganismus, Physical Defense Division F. D., 1958.*

Za nejnadějnější se považuje metoda imunofluorescentní detekce, která ovšem naráží na několik větších potíží: 1. specifická reakce, 2. nutnost, aby ve zkoumaném vzorku bylo přítomno agens přibližně $5 \times 10^5 - 10^4$ v ml. Vpracovávají se metody, které v kombinaci s různými postupy pomáhají řešit tento problém, např. pomnožení mikroorganismu ve vhodných orgánech vnímavého zvířete (byla

vypracována metoda fluorescentního průkazu viru vztekliny v mozku myši ještě dříve, než se vyvinuly Negriho tělíška), namnožení v tkáňové kultuře (detekce virů Rift Valley Fever a VEE v tkáňových kulturách již za 12 hodin po inokulaci), průkaz viru v biotickém vzorku z vhodného orgánu (průkaz viru žluté zimnice v jaterních biopsiích) nebo i zkoncentrování některých krevních elementů s obsahem viru, ev. předchozí namnožení bakterie ve skličkové mikrokultuře.

V souhlase se světovým trendem ve vývoji diagnostiky se považují za nejvýznamnější výzkum a vývoj metod, které identifikují specifické agens nebo jeho metabolický produkt (antigen) přímo v krvi nemocného v inkubační fázi nebo v počátečním období, kdy protilátky ještě nebyly vytvořeny. Výzkum je v naprostých začátcích, ale zdá se, že možnost je v kombinaci vhodných sérologických a imunochemických postupů, které umožní zkoncentrování (chromatografické mikrokolony s deriváty celulózy a iontoměničiči s obsahem protilátek) a průkaz infekčního antigenu. Těmto metodám se věnuje velká pozornost a k jejich řešení se přibírají i civilní spolupracovníci pomocí výzkumných grantů. Američtí pracovníci se domnívají, že pokud nebude dostatek poznatků v této základní oblasti, zdá se, že jenom málo se bude moci změnit na podstatných možnostech rychlé diagnostiky.

Proto, i když ve shodě s našimi názory považují diagnostiku pomocí průkazu protilátek za relativně pozdní, rozvíjejí možnosti sérologické diagnostiky, neboť za některých okolností může mít význam 1. tam, kde průkaz specifického agens je dlouhodobý (tularémie, brucelóza, virózy), 2. při epidemiologické depistáži inaparentních onemocnění, 3. v mírové epidemiologické praxi (epidemiologické přehledy). Proto se věnuje pozornost 1. vývoji (rychlosti) protilátkové odpovědi, 2. citlivosti sérologických metod, které by umožnily detekci protilátek dříve než běžně používané laboratorní testy (určení blokujičích protilátek, specifický gamaglobulin, konsumpční test a hemaglutinační reakce), 3. průzkum protilátek novými testy, kde reakce klasické sérologie selhávají (imunodifúzní metody, imunofluorescence), 4. sérologickým mikrometodám, které jsou zvlášť nutné, protože množství krve, které se pacientovi může odebrat, je omezené a musí se při tom vyšetřovat s větším počtem antigenů a také s ohledem na pracovní kapacitu laboratoře. Věnuje se pozornost i vhodným metodám transportu krve k vyšetření (odběr krve na filtrační papírky). Tak byly např. zpracovány precipitace v agaru u antraxu a tularémie. Výzkum sérologických metod se považuje za nutný i s ohledem na možnosti sérologického ohodnocení skutečné imunity — v tomto směru má značný význam i příprava a purifikace optimálních antigenů.

Vzdušné (inhalační) nákazy jsou velmi podrobně studovány (viz Symposium o vzdušných

nákazách v r. 1961). Sledují se zejména otázky: které zárodky mohou vyvolat inhalační nákazu (bylo např. zjištěno, že i *Salmonella typhi* může způsobit vzdušnou infekci) a za jakých podmínek (velikost inhalačních dávek a závislost na velikosti partikulí), průběh těchto inhalačních nákaz, možnosti jejich prevence (aktivní i pasivní imunizace, chemoprophylaxe) a otázky vlastní patogeneze v plicích (úloha lymfatického systému při primárním bronchiálním zachycení, zejména možnosti pomnožení v bohatém lymfatickém systému bronchů; úloha plicních fagocytů při proniknutí zárodků do alveolárních duktů, možnosti přežívání mikrobů ve fagocytech, zavlečení jich na odlehlá místa, úloha povrchových struktur mikrobů při fagocytóze; význam nejmenších anatomických jednotek dýchacího systému — respiračních bronchiolů a primitivních alveolů — pro vznik choroby; možnosti mikroorganismu proniknout z plic přímo do krevního řečiště buď kapilární sítě v alveolech nebo přes bronchiální krevní zásobení — snad u *C. burneti*). Do budoucna se považuje za důležité objasnit význam faktorů, o nichž dosud víme jen málo: věk, pohlaví, genetické vlivy, výživa, stress, interkurentní infekce, malformace, preexistující respirační nebo retikuloendoteliální léze, které mohou hluboce ovlivnit hostitelskou část interakčního systému hostitel—parazit. Současně s tím je nezbytně nutné věnovat větší pozornost „všeobecné imunologické reaktivitě“, tj. srovnat způsob reagování organismu pokusných zvířat s organismem člověka, neboť novější nálezy ukazují, že mnohé starší představy o virulenci a rozvoji chorob tak, jak jsou známy z pokusů na zvířatech, nemusí platit pro člověka (strep-tokoky, tyfus, brucely).

Značná pozornost se věnuje i otázkám organizačního a technického rázu, na kterých se podílí společně zdravotnická i chemická služba americké armády. Tyto úkoly jsou v odborném tisku pochopitelně publikovány méně. Jde především o počáteční fáze biologického napadení, kdy imunizace vojsk a obyvatelstva nemůže být provedena v dostatečné šíři, aby zabezpečila kompletní ochranu a kdy rozhoduje rychlá organizace detekce a poplachu pro ohrožené území, ev. pro celé USA. Tyto počáteční fáze jsou zaměřeny na odběr vzduchu pomocí nejrůznějších souprav (Sampling Microbiological Aerosols, Public Health Monograph No 50, 1959) a nespécifickou detekci stanovením obsahu mikrobů, bílkovin a nukleových kyselin. Věnuje se pozornost organizaci sítě odběrových stanic s ohledem na předpokládané šíření aerosolových mraků, způsob předání vzorků k identifikaci a podmínkám k rozhodnutí velitele o vyčkání na místě nebo použití prostředků fyzikální ochrany — masky nebo kolektivního úkrytu.

Mezi úkoly Oddělení fyzikální ochrany ve Fort Detricku je i vývoj vhodných masek nejen pro vojska (současná vojenská maska chrání dokonale), ale i pro ostatní obyvatele — lehké, snadno přenosné masky pro dospělé i děti do tří let, z vhodných baktericidních tkaniv.

Velká péče se věnuje od doby druhé světové války i možnostem dekontaminace a dezinfekce. Za nevhodnější dezinfekční prostředek se považují dezinfekční plyny, které by mohly být aplikovány i na takové rozdílné předměty, jako boty, letadla a analytické váhy. Za nevhodnější se považují dva prostředky — etylénoxid a betapropiolakton. V obou případech se sterilizace uskutečňuje kontaktem zcela suchého materiálu při běžné teplotě, ale aplikace je různá. Etylénoxid má pozoruhodné schopnosti penetrace a difunduje i do porózního materiálu a sterilizuje všude, kde mikroorganismy se mohou usadit. Je třeba vysokých koncentrací a expozičtí kolem 6 hodin. Jeho schopnost difúze ho činí nesnadno ovladatelným a může se užít ke sterilizaci přístrojů umístěných uvnitř vhodných kontejnerů, které lze však snadno improvizovat z plastických plachet. Vlastnosti betapropiolaktonu jsou opačné a může se použít k dezinfekci i v místnostech bez utěsnění, dezinfikuje lépe než etylénoxid, ale proniká nesnadno do porózních předmětů, na vnitřní plochy přístrojů. Použití tohoto plynu není tak snadné jako etylénoxidu pro jeho toxicitu a dráždivost.

Věnuje se i pozornost organizaci dekontaminace. Protože dříve než dojde k identifikaci infekčního agens, může uplynout několik dnů i týdnů, lze očekávat, že sluneční světlo, déšť, vysušení, vyšší teploty postupně zničí zárodky v zevním prostředí, a proto dekontaminace zevního prostředí není bezprostředně nutná. Nezbytné je však provádět dezinfekci diferencovaně, uvnitř budov, vnitřky přístrojů, kde se zárodky velmi dlouho udržují ve vysokých koncentracích.

Práce sledující význam snížené odolnosti po ozáření na průběh infekce nejsou publikovány a zdá se, že výzkum ochrany ozářených organismů před infekčními chorobami se provádí převážně na jiných pracovištích. Z Walter Reed Army Medical Center byly uveřejněny studie týkající se ochrany ozářených zvířat použitím anoxujících radioprotektivních sloučenin.

Teprve v r. 1963 byla v rámci epidemiologického výboru ozbrojených sil ustanovena speciální komise, jejímž úkolem je studovat otázky ozáření a infekce. V první etapě své činnosti tato komise shromažďuje informace a stanovuje výzkumný program.

Pisemnictví u autora.