

Karel KLOUDA¹, Stanislav BRÁDKA², Renata WIRCINSKA³, Hana KUBÁTOVÁ⁴,
Jitka KALÍKOVÁ⁵

BIOTERRORISMUS PŘÍKLADY MODELOVÉHO ŠÍŘENÍ SUBSTITUENTU ANTRAXU

BIOTERRORISM
MODEL DISSEMINATION OF AN ANTHRAX SUBSTITUENT IN A REAL BUILDING

Abstrakt

Príspevek popisuje průběh a výsledky modelování „in-situ“ šíření substituentu spor původce antraxu (spory *Bacillus stearothermophilus*) v administrativní budově při „zpracování“ doručené kontaminované zásilky a při jeho uvolnění v autobusu MHD. Výsledky potvrdily předpokládaný vysoký stupeň ohrožení pracovníků administrativy v reálném případě a rovněž ohrožení cestujících v autobusu MHD.

Klíčová slova: antrax, substituent antraxu - *Bacillus stearothermophilus*, modelování, kultivace, administrativní budova, městský autobus

Úvod

Pro modelování šíření chemických, biologických a radioaktivních látek lze využít:

- matematické modelování (numerické řešení pohybových rovnic),
- fyzikální modelování (měření na modelu umístěném ve speciálním aerodynamickém tunelu),
- přímé měření v terénu, prostoru, tj. „in-situ“.

Rezort Státního úřadu pro jadernou bezpečnost se, v souladu s Národním akčním plánem boje proti terorismu, již dva roky zabývá modelováním šíření substituentu otravné látky sarin. K modelování jsme postupně využili jak formy fyzikálního modelování na modelu Staroměstského náměstí (Klouda, K. et al., 2006), matematické modelování v přestupní stanici metra Muzeum (Klouda, K. et al., 2008), tak i nejreálnější formou - modelování „in-situ“. Takto byly zpracovány přestupní stanice pražského metra Muzeum, Florenc a Můstek (Klouda, K. et al., 2007).

Po zkušenostech získaných modelováním šíření chemické látky jsme se zaměřili na modelování šíření biologických látek, které jsou schopny vyvolat onemocnění nebo usmrcení osob, zvířat či rostlin a lze je využít k realizaci kriminálního činu či jako formu teroristického útoku (B-agens).

¹ Ing., CSc., M.B.A., Státní úřad pro jadernou bezpečnost, Senovážné náměstí 9, 110 00 Praha 1, e-mail: Karel.Klouda@sujb.cz

² MUDr., Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany, v.v.i., Kamenná 71, 262 31 Milín, e-mail: stanislav.bradka@sujchbo.cz

³ Ing., Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany, v.v.i., Kamenná 71, 262 31 Milín, e-mail: renata.wircinska@sujchbo.cz

⁴ RNDr., Státní úřad pro jadernou bezpečnost, Senovážné náměstí 9, 110 00 Praha 1, e-mail: hana.kubatova@sujb.cz

⁵ Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany, v.v.i., Kamenná 71, 262 31 Milín, e-mail: jitka.kalikova@sujchbo.cz

Každý z nás musí denně čelit útoku miliónů mikroorganismů, aniž by to zvláště vnímal. Náš imunitní systém je schopen tyto patogeny průběžně, až do určitého množství (prahové množství), likvidovat. Toto prahové množství je pro každý patogen různé a je závislé na aktuálním stavu imunitního systému každého jedince.

Centrum pro kontrolu léčiv a jejich prevenci v Atlantě (CDC) vybrala B-agens, která lze použít jako biologické zbraně. Patogeny rozdělila do tří skupin: A, B, C. Nejnebezpečnější jsou patogeny zařazené do skupiny A, do níž byly vybrány nejrizikovější patogeny a toxiny z hlediska jejich dostupnosti, možnosti rozšíření a následného přenosu, výsledné mortality a odstranění následků jejich použití. Do skupiny A náleží:

- *Bacillus anthracis* (antrax),
- *Yersinia pestis* (mor),
- *Francisella tularensis* (tularémie),
- *Variola major* (pravé neštovice),
- Viry hemoragických horeček (např. Ebola, Marburg, Lassa, Machupo),
- *Clostridium botulinum* toxin (botulismus).

Veřejnost USA byla na podzim r. 2001 vystavena útoku antraxu v podobě listovních zásilek. Výsledkem bylo, že z 11ti zasažených osob jich 5 zemřelo. Panika a strach z listovních zásilek obsahujících antrax následně postihla i Českou republiku. Jen naše resortní organizace Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany za období říjen-prosinec 2001 prověřila více než dva tisíce zásilek. Obsahem podezřelých zásilek byly našťásti pouze prášky, jejichž součástí nebyly spory původce antraxu. Přesto, a právě proto jsme se rozhodli formou „in-situ“ namodelovat možné šíření spor *B. anthracis*, resp. jeho substituentu. Pro modelování jsme vybrali běžné situace z reálného života – doručení listovní zásilky do administrativní budovy a dopravu autobusem městské hromadné dopravy.

Stručně o *Bacillus anthracis* (antraxu)

Antrax (sněť slezinná, uhlák, modré neštovice) je akutní infekční onemocnění zvířat (především ovcí, koz, hovězího dobytka), které může být zdrojem nákazy pro člověka, a to buď přímým kontaktem nebo prostřednictvím produktů (maso či kůže nakažených zvířat). Původcem onemocnění je *Bacillus anthracis*, grampozitivní sporulující tyčinka o průměru 1-1,5 μm a délce 4-8 μm . Z vegetativní formy mikroorganismu vznikají za dostatečného přístupu vzduchu a při vhodné teplotě spory, které jsou vysoce odolné, zejména proti vyschnutí. Spory antraxu mohou v půdě přetrvávat v životaschopném stavu desítky let. Podle místa vstupů spor do organismu se u antraxu rozlišují tři formy:

- kožní (nejčastější; zčernalý vřed – uhlák; mortalita bez léčby 5-20 %),
- inhalační (horečka, třesavka, sepse, septický šok, smrt za 24 – 36 hod.),
- střevní (nevolnost, zvracení, krvavé průjmy; mortalita kolem 50%).

Léčba nakažených má šanci při včasném a agresivním nasazení antibiotik. Je nutno s ní pokračovat po dobu 60ti dnů od expozice sporám.

Vzhledem ke skutečnosti, že *B. anthracis* vytváří odolné spory, které mohou nakazit člověka prostřednictvím dýchacích cest, se tyto spory staly předmětem nejen vojenského zájmu, ale mohou být využity také ke spáchání teroristického nebo kriminálního činu.

Výběr substituentu za původce antraxu

Pro vlastní experiment, tj. modelové šíření B-agens (*B. anthracis*) v reálné budově a za reálné situace bylo nutno, a to z pochopitelných bezpečnostních důvodů, vybrat za původce antraxu substituent. Pro výběr substituentu jsme zvolili tato kritéria:

- bezpečnost vůči lidskému činiteli,
- obdobný typ, tj. bakterie, grampozitivní, aerobní, spirálující,
- schopnost tvořit spory obdobných rozměrů jako spory *B. anthracis*,
- snadná a průkazná identifikace, detekce,
- snadná kultivace,
- dostupnost, cena.

Po zvážení všech výše uvedených kritérií byl pro experimenty vybrán jako substituent *Bacillus stearothermophilus* (nověji se nazývá *Geobacillus stearothermophilus*).

Bacillus stearothermophilus

B. stearothermophilus je grampozitivní bakterie, tyčinkového tvaru. V přírodě je běžně rozšířena zejména v půdě a ve vodě, odkud se spory mohou dostávat i do ovzduší. Bakterie bývají poměrně velké o průměru 0,5 – 1,2 μm a jejich délka přesahuje často 10 μm . Jsou pohyblivé díky petrichiálně umístěným bičíkům. Důležitým znakem je schopnost tvořit endosporu. Sporulace probíhá pouze za přítomnosti kyslíku, protože pro sporulaci buňka získává energii především oxidací zásobních lipidů z cytoplazmy.

B. stearothermophilus je kultivačně poměrně nenáročná bakterie, snadno rostoucí na běžných půdách. Nejčastěji na živných půdách a bujonech o složení: masový pepton; hovězí extrakt; chlorid sodný a u půdy také agar. Jedná se o termofilní bakterii s optimální teplotou růstu kolem +55° C, je však schopna růstu i při +65° C. Při +37° C projevuje pouze nepatrný růst na vhodné půdě. Proto je považována pro člověka za nízké patogenní a uplatňující se pouze u lidí se sníženou imunitou.

Experiment I.

Záměrem našeho experimentu byla kontaminace obsahu poštovní zásilky (balíčku), která má být doručena na podatelnu významné státní instituce.

Příprava experimentu I.

Dle dostupných informací je personál bezpečnostních složek (agentur) a personál spisové služby školen tak, aby se u doručených poštovních zásilek (listovních zásilek i balíčků) zaměřil na následující „podezřelé“ prvky:

- mastné nebo barevné skvrny,
- podezřelý zápach,
- vyšší hmotnost poštovní zásilky než lze očekávat,
- pod povrchem obálky či obalu jsou patrné nerovnosti,
- velké množství lepících pásek,
- odlišné místo podací pošty oproti zpětné adrese,
- rukou psaná adresa, velký počet známek,
- vyčnívající dráty či kovové fólie.

Tyto „podezřelé“ prvky v naší zásilce budou chybět. Za obsah balíku jsme zvolili výpravnou publikaci Kronika hornictví země Koruny české.

K experimentu byly použity spory *B. stearothermophilus* získané lyofilizací připravené bakteriální suspenze. Vzniklý lyofilizát nebyl dále upravován, nedošlo k jeho rozměňování ani mletí za účelem úpravy velikosti částic.

Deset gramů spor *B. stearothermophilus* bylo promícháno se sto gramy papírové vlny a následně s vybranou knihou vloženo do kartónové krabice. Krabice byla následně obalena balícím papírem, na který byla nalepena doručovací adresa a zpětná adresa odesílatele (Magistrát města Ostravy, sekretariát primátora) viz obr. č. 2-5.

Pro vlastní experiment jsme vybrali administrativní objekt, ve kterém bylo možno napodobit manipulaci s poštovní zásilkou a její pohyb od podatelny ke konečnému příjemci (VIP osobě) postupem obvyklým pro státní instituce.

Ke sběru a následné detekci uvolněných spor jsme vybrali Petriho misky s živným agarem (složení: masový extrakt, masový pepton, chlorid sodný, agar dle ČSN 757841). Tyto misky jsme umístili na místa, která jsou vyznačena v půdorysu části budovy, viz obr. č. 1. (víčka misek byla odstraněna až těsně před zahájením vlastního experimentu). Za účelem získání informací, jaké množství spor by inhaloval personál určený pro manipulaci s poštovními zásilkami, jsme zároveň na místa vyznačená na obr. č. 1 umístili aeroskopy - přístroje určené pro mikrobiologické monitorování vzduchu (Spin Air 90 mm, Stave Spin Air dodávka firmy Bio Tech, a.s., Praha 10).

Průběh experimentu I. a jeho výsledek

Připravená poštovní zásilka (obr. č. 6) byla doručena na příjem v administrativní budově, kde byla podrobena zevní prohlídce, včetně RTG – kontroly (viz obr. 7) a jako bezpečná byla předána podatelně (obr. č. 1, kancelář č. I). Zde byla otevřena, její obsah byl standardně zaevidován (obr. č. 8) a byla umístěna na polici (do schránky příslušného sekretariátu). Na polici v podatelně ležela zásilka 35 minut, přičemž v toto období do podatelny vešli 6x další administrativní pracovníci. Poté byla vyzvednuta a přenesena do sekretariátu (kancelář č. II, obr. č. 1), kde byl odstraněn obal (obr. č. 9) a kniha byla vyzvednuta z kartónové krabice. Po 15 minutách byla kniha již samostatně předána do kanceláře č. III, kde ji VIP osoba 10 minut studovala (obr. č. 10).

Po ukončení experimentu byly Petriho misky uzavřeny a předány ke kultivaci. Výsledky kultivace z jednotlivých sběrných míst jsou barevně odlišeny a vyznačeny v půdorysu na obr. č. 1. (příklad vykultivovaných kolonií viz obr. č. 13 a 14). V aeroskopech byly Petriho misky měněny po deseti minutách, proto na stolech v kanceláři č. I jsou tři údaje o výsledku kultivace, v kanceláři č. II dva a v III jeden, rovněž jeden na chodbě. Pro doplnění údajů získaných z volně uložených Petriho misek a aeroskopů byly z některých míst (např. dveřní kliky) provedeny stěry, které se následně kultivovaly.

Dekontaminace experimentálních prostor byla provedena UV zářením a Persterilem do negativních stěrů.

Experiment č. II

Záměrem experimentu bylo prověřit stupeň (rozsah) šíření spor bakterií, které byly uvolněny v městském autobusu při jeho běžném provozu.

Příprava experimentu č. II.

Experiment se uskutečnil ve speciální hale v areálu Státního ústavu jaderné, chemické a biologické ochrany, v.v.i. (SÚJCHBO), Příbram – Kamenná, Milín. K experimentu byl vybrán starší autobus typ Karosa LC 735, který při větrání nasává vzduch z čela autobusu, ze střechy a ze zavazadlového prostoru (Dopravní podnik hl. m. Prahy má v současné době ještě cca 20% autobusů této typové řady).

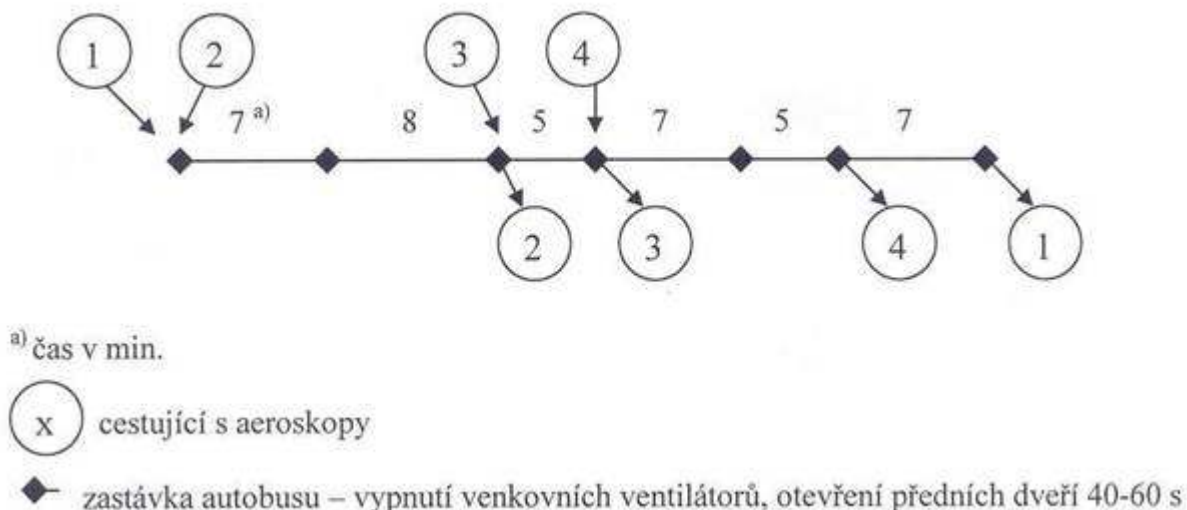
Autobus byl umístěn do haly společně s ventilátory (obr. č. 11), jejichž účelem bylo nahradit proudění vzduchu proti autobusu v době jízdy. Byla připravena časová osa jízdy autobusu (viz níže), která určovala dobu jízdy a zastávek, nástup a výstup cestujících a měla za úkol namodelovat průběh běžné trasy městského autobusu z výchozí na konečnou stanici (cca 40-45 minut).. Jízda autobusu byla simulována nastavením proudění vzduchu ventilátorů proti autobusu v hodnotě, která odpovídá rychlosti autobusu cca 30-40 km/hod. V době, která na časové ose odpovídá zastávkám, byly ventilátory vypnuty.

V experimentu byly použity spory *B. stearothermophilus* získané lyofilizací připravené bakteriální suspenze. Vzniklý lyofilizát nebyl dále upravován, nedošlo k jeho rozmělnění ani mletí za účelem úpravy velikosti částic.

Ke sběru a následné detekci uvolněných spor byly použity stejné prostředky jako u experimentu č. I, rovněž i způsob dekontaminace. Petriho misky byly rozmístěny nejen uvnitř autobusu (na sedačkách, podlaze, vrchním zavazadlovém prostoru), ale také v okolí autobusu (viz obr. č. 12). Víčka misek byla odstraněna až těsně před zahájením vlastního experimentu.

Průběh experimentu II. a jeho výsledek

Šedesát gramů spor *B. stearothermophilus* bylo vysypáno z výšky 20 cm na podlahu autobusu mezi druhou a třetí řadu sedadel na straně řidiče. Následoval modelový průběh jízdy autobusem podle níže uvedené časové osy. Na této ose jsou rovněž vyznačena místa nástupu a výstupu cestujících (pracovníci s měřicími přístroji - aeroskopy). Z časové osy je patrná délka pobytu cestujících v kontaminovaném prostoru.



Po skončení „jízdy“ autobusu na konečné stanici (ukončení experimentu) byly Petriho misky uzavřeny a předány ke kultivaci. Výsledky kultivace z jednotlivých sběrných míst

v autobusu a okolí jsou barevně odlišeny (viz obr. č. 12). Autobus měl během experimentu zavřená okna, spuštěnou vnitřní ventilaci a na „zastávkách“ otvíral přední dveře.

Závěr

Námi realizovaný experiment č. I., tj. modelování šíření biologických agens „in-situ“, se snažil co nejvíce přiblížit reálnému pohybu kontaminované zásilky v administrativní budově. Proto v jeho průběhu nebyl jako substituent použit „prášek“ (viz antraxové zásilky na konci r. 2001), ale skutečné bakteriální spory, s vědomím jistého rizika pro experimentátory.

Výsledky kultivace jasně prokázaly předpokládané vysoké riziko nákazy pracovníků, kteří s kontaminovanou zásilkou přišli v pracovním procesu do styku.

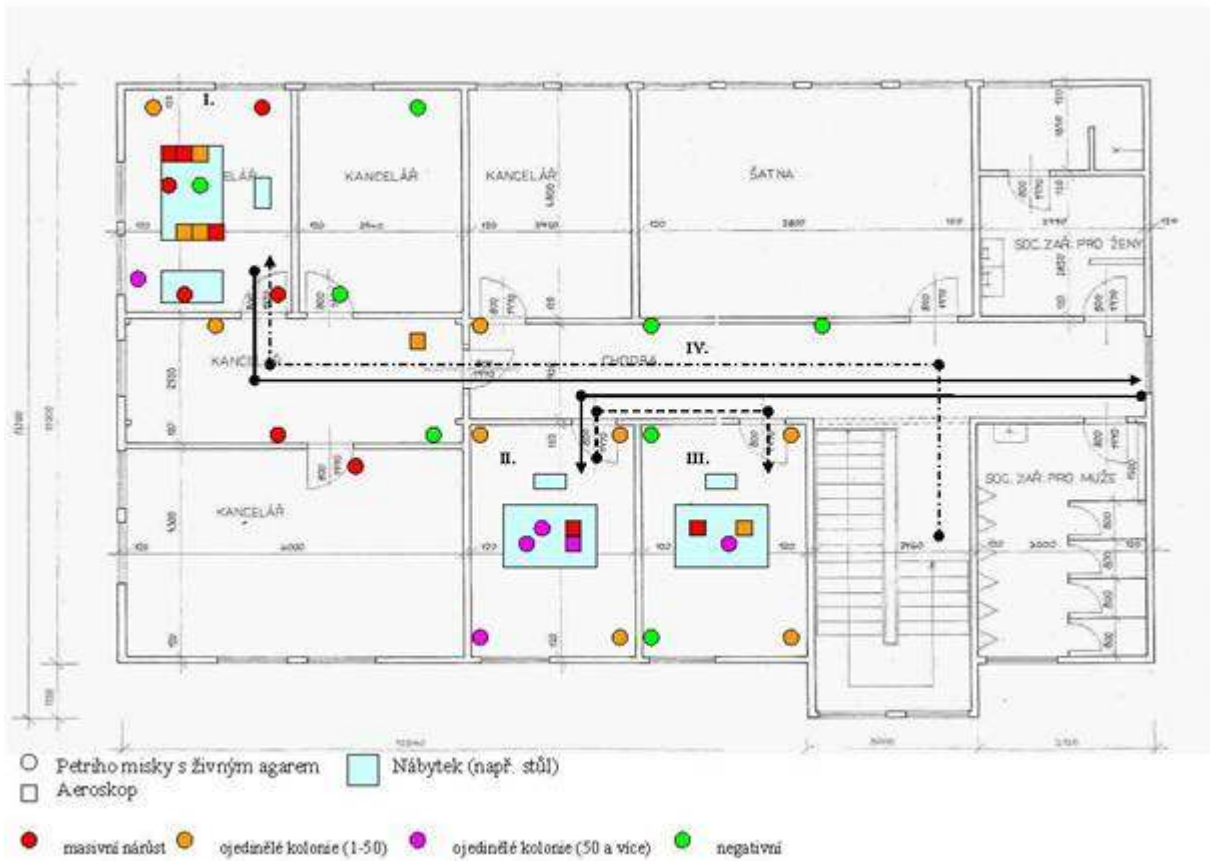
U experimentu č. II. byl reálný průběh limitován nemožností jízdy v městské aglomeraci. Rovněž počet cestujících v autobuse byl z důvodu bezpečnosti silně redukován, čímž došlo k omezení stupně šíření spor jak v prostoru autobusu, tak mimo něj. Přesto došlo ke kontaminaci významné části vnitřního prostoru autobusu a rovněž i nástupiště (viz obr. č. 12). Nejvíce byla kontaminována přední část autobusu na jeho pravé straně (okolí místa uvolnění spor). I v tomto případě se prokázalo předpokládané riziko nákazy cestujících, řidiče i možné zavlečení nákazy mezi cestující na zastávce.

Příklady vykultivovaných kolonií bakterie z obou experimentů, tj. ojedinelé kolonie a masivní růst kolonií jsou uvedeny na obr. č. 13 a 14.

V případě skutečných spor *B. anthracis* a bez ochranných prostředků, kterými byly naši experimentátoři vybaveni, by se v reálném životě popsané kriminální (teroristické) útoky s největší pravděpodobností neobešly bez obětí.

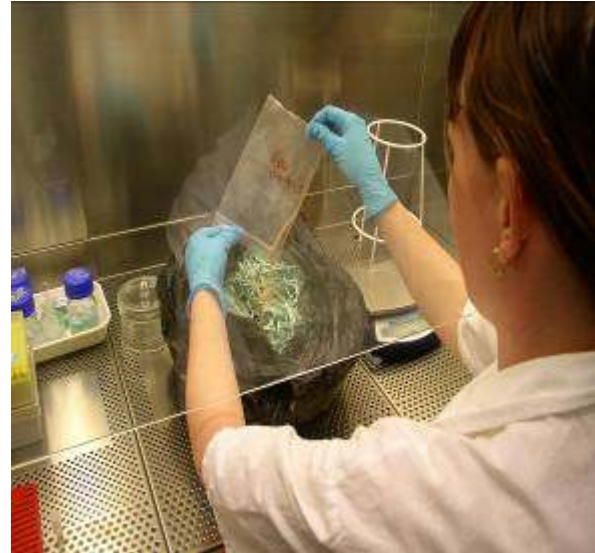
Zákeřnost popsaných způsobů útoku spočívá v nemožnosti běžným způsobem (smyslovými orgány) odhalit přítomnost biologického agens.

Obr. 1 Půdorys administrativního patra, trasa pohybu zásilky, měřicí místa





Obr. č. 2: Spory *Bacillus stearothermophilus*



Obr. č. 3: Promíchání spor s papírovou hmotou



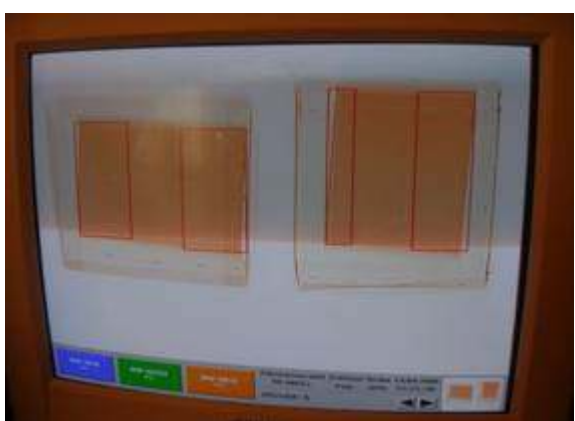
Obr. č. 4: Vložení knihy do kartónové krabice



Obr. č. 5: Závěrečné balení zásilky do papírového obalu



Obr. č. 6: Konečná forma vnitřně kontaminované zásilky



Obr. č. 7: RTG analýza zásilky



Obr. č. 8: Otevření zásilky a její zaevidování
(kancelář I)



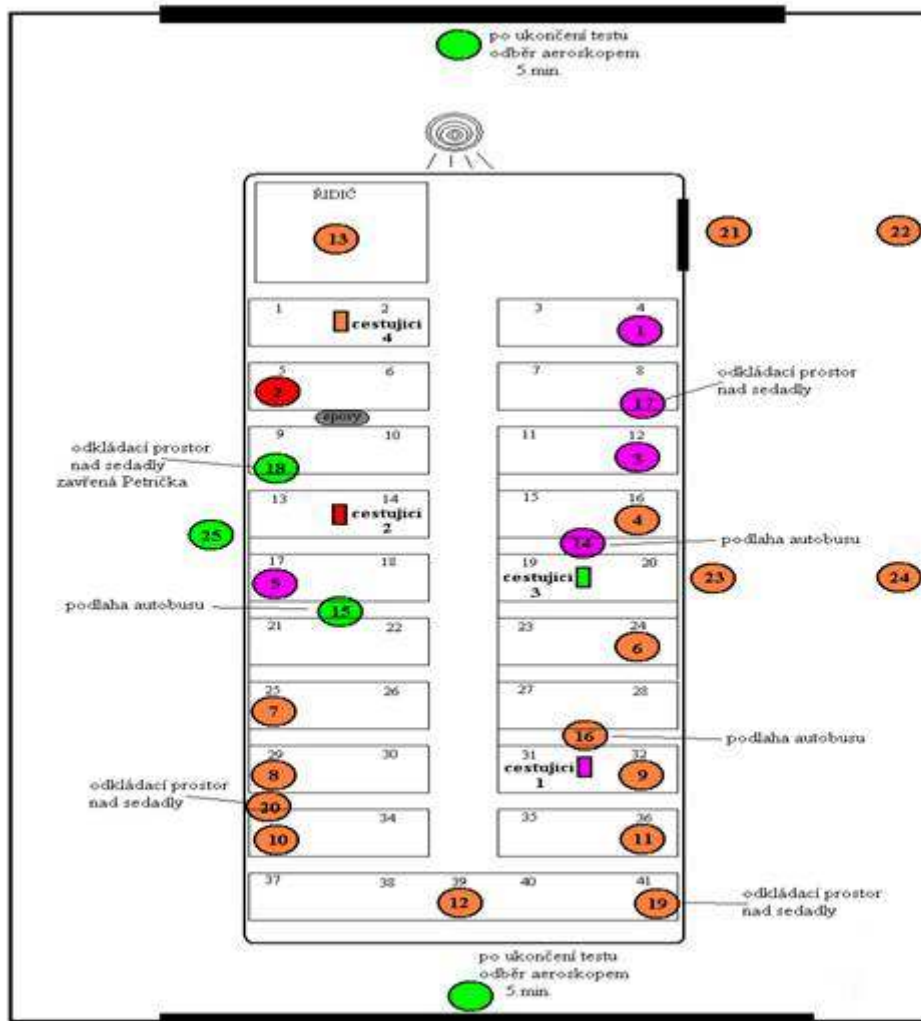
Obr. č. 9: Úplné vyjmutí knihy z obalu
(kancelář II)



Obr. č. 10: Listování VIP osoby v doručené knize
(kancelář III.)

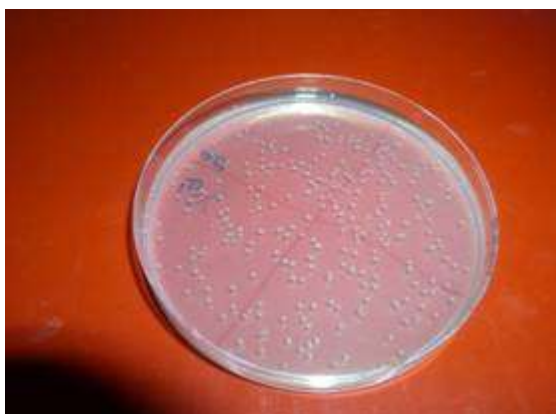


Obr. č. 11: Přípravné práce před
experimentem II.

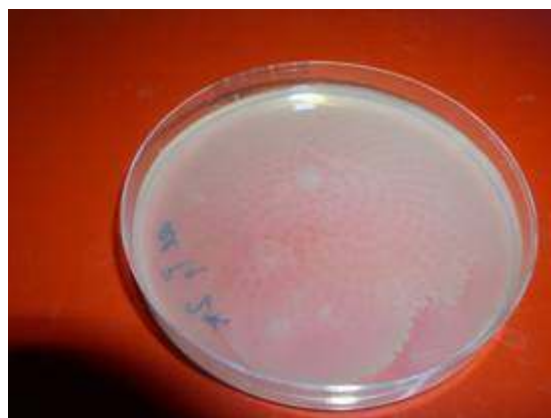


- masivní nárůst
- ojedinělé kolonie (1 - 50)
- ojedinělé kolonie (50 - 200)
- negativní

Obr. č. 12: Rozmístění měřících míst v autobusu a okolí, výsledky kultivace



Obr. č. 13: Ojedinělé kolonie (50 a více) *Bacillus Stearothermophilus*



Obr. č. 14: Masivní kolonie *Bacillus Stearothermophilus*

Literatura

- [1] KLOUDA, K., BEZPALCOVÁ, K., JAŇOUR, Z.: *Fyzikální modelování šíření nebezpečných látek na Staroměstském náměstí a v jeho okolí*, Nebezpečné látky 2006, sborník, str. 61, ISBN 80-86634-91-4
- [2] KLOUDA, K., BOJKO, M., KOZUBKOVÁ, M.: *Porovnání výsledků šíření substituentu otravné látky (in-situ) v prostoru přestupní stanice metra Muzeum C – A s matematickým modelem šíření*, Požární ochrana 2008, v tisku
- [3] KLOUDA, K., BRÁDKA, S., URBAN, M., BERANOVÁ, P.: *Zapojení resortu SÚJB do řešení úkolu Ministerstva vnitra – GŘ HZS ČR „Reakce na teroristický útok s použitím bojových otravných látek na pražské metro“*, Dekontam 2007, Ostrava, 2007, sborník, str. 71. ISBN 978-80-7385-003-6