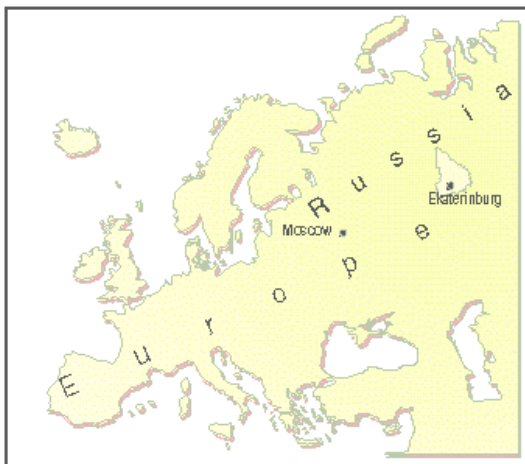


Bacillus anthracis

- bakterie powszechnie dostępne → przetrwalniki w glebie na obszarach endemicznych
- w przypadku inhalacji może prowadzić do śmierci

Świerdłowski 1979 r.



7 lat po podpisaniu konwencji ONZ zakazującej produkowania broni biologicznej na terenie ZSRR wybuch nagle epidemia węglików.

Źródłem skażenia są zakłady produkujące broń biologiczną (błąd człowieka).

Przypuszczalnie uwolnione zostaje od 1g do 100g przetrwalników węglików. Skażony aerozol można wykryć nawet 40 km od miejsca wypadku, mało zaludnione tereny wiejskie

200 osób jest zarażonych, 66 umiera.

USA 2001 r.



Spory węglików w listach docierają do biur senatorów w Waszyngtonie, dziennikarzy na Florydzie i stacji NBC, ABC, CBS w NY

Dochodzi do skażenia urzędów pocztowych.

22 osoby zostają zarażone (11 - węglik skórny, w tym 7-miesięczne niemowlę i 11 - inhalacyjny),

5 osób umiera (inhalacja sporów)

ok. 10 tys. osób profilaktycznie zażywa antybiotyki przez następne 60 dni

The National Pharmaceutical Stockpile - dostarczyło 3,75 mln tabletek z antybiotykiem w okresie: październik 2001 - styczeń 2002

Laboratory Response Network (LRN) - przeanalizowano ponad 125 tys. próbek klinicznych oraz ponad milion próbek pobranych z otoczenia

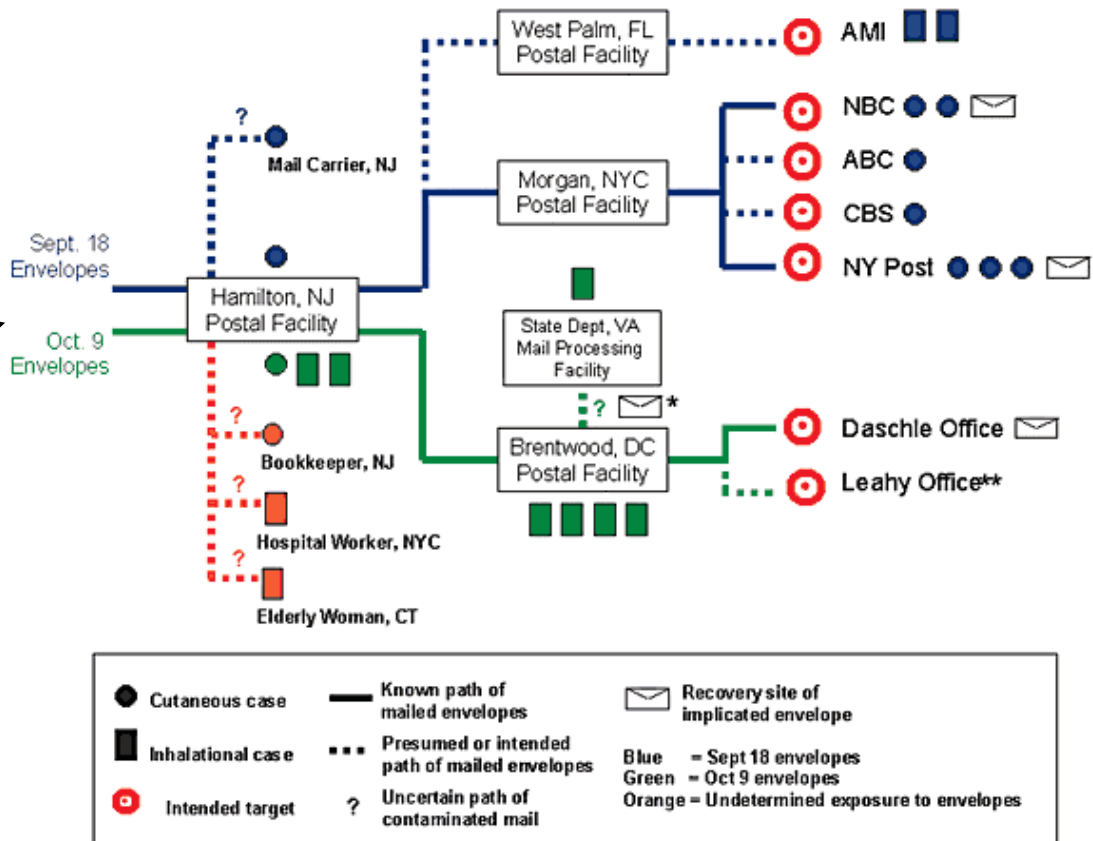
Co się zmieniło?

- globalne postrzeganie bioterroryzmu jako realnego zagrożenia
- spojrzenie na zagadnienie wtórnej aerosolizacji
- problem resztek pocztowych

B. anthracis w USA

Emerging Infectious Diseases , October 2002

wersja online: www.cdc.gov/eid



Jernigan DB, Raghunathan PL, Bell BP, Brechner R, Bresnitz EA, Butler JC, et al. (2002) Investigation of bioterrorism-related anthrax, United States, 2001: epidemiologic findings. *Emerg Infect Dis* 10:1019-28

Proszek znaleziony w 4 kopertach zawierał ten sam szczep bakterii *B. anthracis* (szczepy nierozróżnialne), jednak siła rażenia była różna. Zakażenia drogą wziewną były powiązane z pocztą wysłaną w październiku 2001 r.

- Czy był to efekt zamierzony?
- Czy był to wpływ czynników środowiskowych?

B. anthracis w USA

SORTOWANIE POCZTY

- Jakie ryzyko skażenia?

Kanadyjczycy przeprowadzili testy z *Bacillus globigii*. Zamknięte koperty zawierające bakterie mogą być pierwotnym źródłem zakażenia.

Na poczcie w Brentwood przeprowadzono test:

zasymulowano pracę urządzeń sortowniczych (zdezynfekowane wcześniej 0,05% podchlorynem)

Wykryto bakterie *B. anthracis* (cfu - colony forming units)

Pracownik pracujący na poczcie w ciągu 8 godzin wdychałby około 30 cząstek zawierających żywe bakterie węgliką

Jest to niskie skażenie: 20 - krotnie mniejsze niż dawka na jaką byli ekspozowani sortowacze wełny (Pennsylvania, w ciągu 8 godzin wdychali około 1 300 cząstek zawierających żywe bakterie węgliką, mniej niż 510 cząstek miało średnicę mniejszą niż 5 μm), stukrotnie mniej niż wyliczona LD_{50} dla człowieka

???

List do jednego z senatorów (T. Daschle) zawierał około 2g proszku; 10^9 do 10^{12} przetrwalników na 1g proszku

Skażone listy trafiły na pocztę w Brentwood od 12 do 21 października 2001 r; w tym czasie przez pocztę Brentwood przeszło ok. 60 mln listów

Adresaci zdrowi

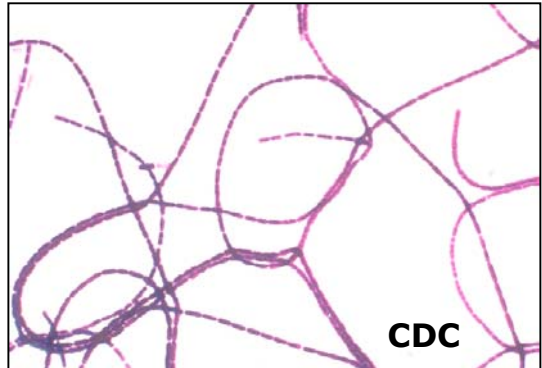
Staruszka z Connecticut - mieszkała w budynku, do którego przychodziły listy ze skażonej poczty w Hamilton, NY (jedyne ogniwo), nigdzie gdzie przebywała w ciągu 2 m-cy przed zachorowaniem nie znaleziono *B. anthracis*.

Zdiagnozowana 20 listopada, zmarła 21 listopada 2001 r.

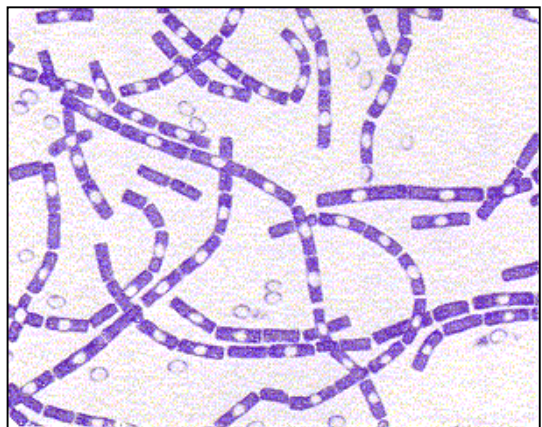
? Wiek, odporność

Bacillus anthracis

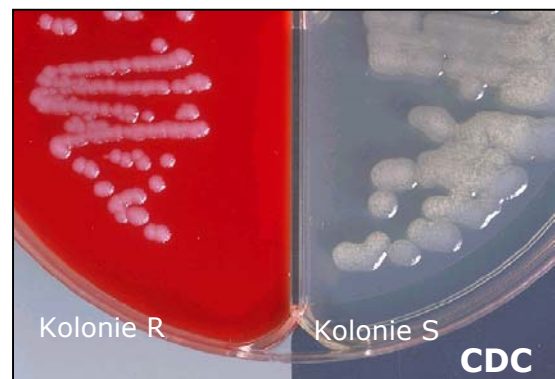
- przetrwalnikująca laseczka G(+)
- rozwija się w warunkach tlenowych i względnie beztlenowych
- bakterie są blisko spokrewnione z *Bacillus cereus*



- endospory tworzą się pośrodku komórki
- przetrwalniki → sterylizacja w autoklawie
- czynniki wirulencji: otoczka, warstwa S (S-layer) i egzotoksyna



- szczepy wytwarzające otoczkę łatwo jest odróżnić - wygląd kolonii - gładkie i śliskie
- otoczka złożona z polimeru kwasu D-glutaminowego
- synteza otoczki



- następuje w organizmie (CO₂)
- plazmid pXO2
- konieczna jest ekspresja trzech genów: *capB*, *capC* i *capA* kodujących enzymy związane z błoną komórkową bakterii. W regulacji ekspresji genów uczestniczą produkty genów *acpA* (pXO2) oraz *atxA* (pXO1)

Szczepy nie wytwarzające otoczki (pozbawione plazmidu pXO2) wykazują obniżoną wirulencję. Otoczka chroni przed fagocytozą. Szczep Sterna - szczepionka weterynaryjna

Toksyna *B. anthracis*

- egzotoksyna składa się z trzech białek kodowanych przez geny: *pagA*, *cya*, *lef* znajdujące się na plazmidzie pXO1
- modelowa toksyna typu **A-B**
- podjednostka B - **czynnik PA** - wiąże się na powierzchni komórek eukariotycznych z receptorami ATR (anthrax toxin receptor) i wprowadza podjednostkę A do cytozolu
- pozostałe dwa białka: - **czynnik EF** i **czynnik LF** - mają aktywność enzymatyczną; każde z nich stanowi odrębną podjednostkę A;

w związku z tym mamy do czynienia z dwiema toksynami

EdTx

Czynnik EF- PA

prowadzi do obrzęku

EF- po związaniu się z obecną w komórce kalmoduliną nabywa właściwości cykazy adenylanowej – enzymu, który katalizuje reakcję przejścia ATP w cykliczny AMP (cAMP). Prowadzi to do gwałtownego, nawet tysiąckrotnego wzrostu stężenia tego związku w komórce. Ponieważ cAMP jest cząsteczką sygnałową, należącą do tzw. przekaźników II typu, które regulują szereg procesów zachodzących w komórkach eukariotycznych, działanie EF zakłóca ich prawidłowy przebieg. Efektem rozregulowania procesów wewnątrzkomórkowych – zwłaszcza zaburzenia transportu jonów – jest wydzielanie przez komórki na zewnątrz elektrolitów i utrata wody.

LeTx

Czynnik LF-PA

prowadzi do śmierci

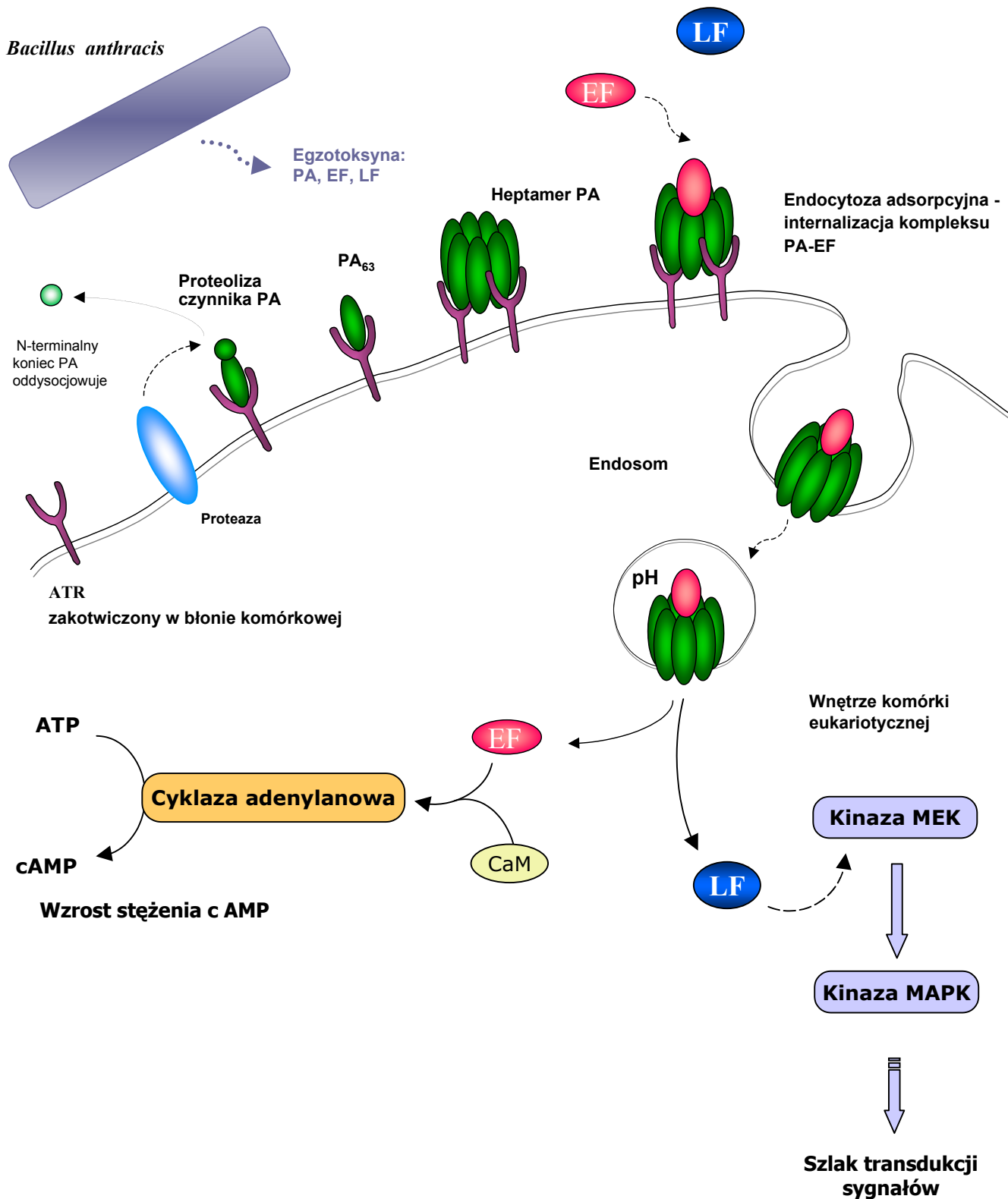
LF - jest cynkową proteazą, inaktywuje wewnątrzkomórkowe kinazy MEK (MEK1, MEK2, MEK3), które stanowią jedno z ogniw szlaków sygnałowych przekazujących zewnętrzne bodźce do wnętrza komórki eukariotycznej. Serynowo-treoninowe kinazy MEK fosforylują, a tym samym aktywują inne kinazy – tak zwane kinazy MAPK.

MAPK uczestniczą m in. w regulacji cyklu komórkowego i aktywacji limfocytów i makrofagów.

Dokładny mechanizm działania obydwu toksyn nadal nie jest poznany.

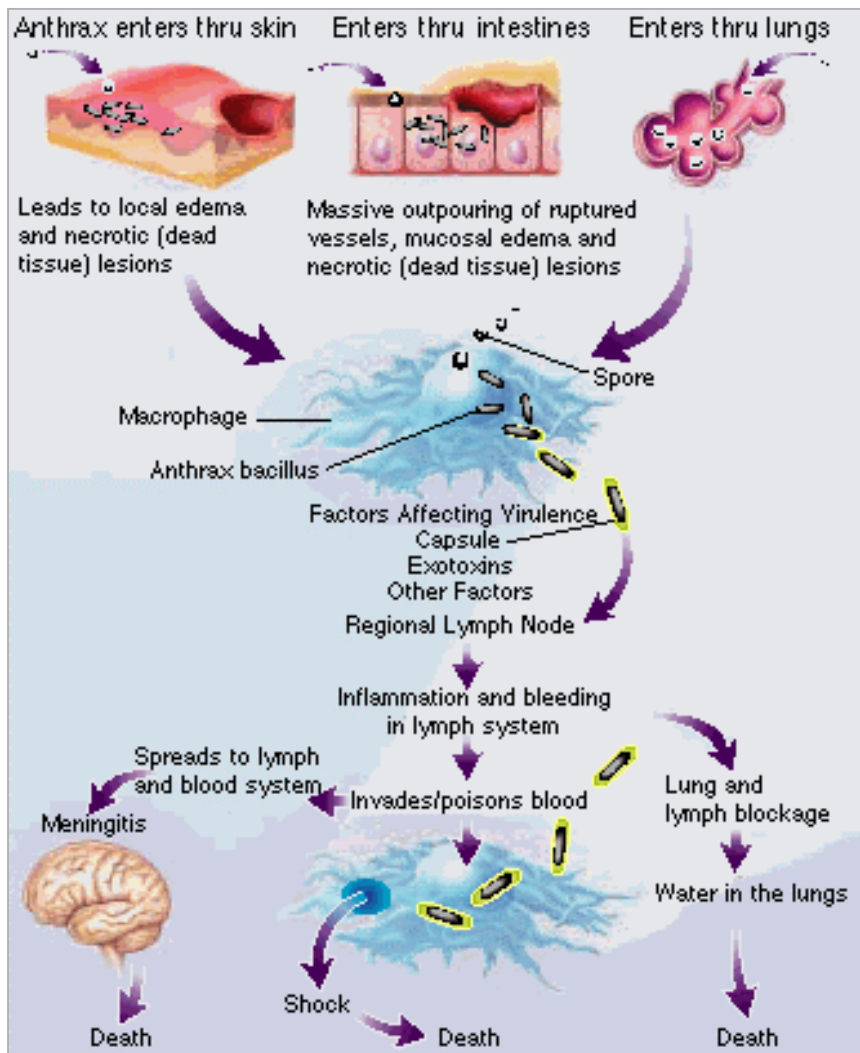
- wzrost syntezy IL-6
- dysregulacja syntezy cytokin prozapalnych: IL-1beta, TNF alfa → szok septyczny, MOF (multiple organ failure)
- obniżenie poziomu NO (konieczny do wyjścia leukocytów z łożyska naczyniowego)

B. anthracis - działanie toksyn



B. anthracis

Drogi zakażenia i objawy



odmiana skórna choroby – na skórze w miejscu, gdzie wniknęły przetrwalniki pojawia się obrzęk. Jest to wynik działania czynnika EF, który wytwarzają bakterie *B. anthracis* zaraz po wykiełkowaniu. Zwykle po dobie od momentu zakażenia pojawia się grudka, która z czasem zmienia się w krostę przypominająca kolorem węgiel – stąd też nazwa tych bakterii: polska (wąglik) i łacińska (anthracis) – wywodząca się od greckiego słowa anthrakis oznaczającego węgiel.

Na skutek martwicy tkanki (działanie toksyny – czynnika LF) krostka przekształca się we wrzód martwicy, z którego zakażenie może się rozprzestrzenić na cały organizm wywołując **posocznicę (uogólnione zakażenie ustroju)**. W takim przypadku w 1 ml krwi stwierdza się nawet **około 100 milionów** komórek bakteryjnych. Kuracja antybiotykowa zastosowana po zauważeniu zmian skórnych daje właściwie całkowitą gwarancję na wyleczenie choroby. W przypadku nie podjęcia leczenia śmiertelność szacuje się na około 20%.

odmiana płucna (wziewna) – Okres inkubacji choroby trwa około od 2 do 43 dni. Endospory *B. anthracis*, które pojawiają się w układzie oddechowym są fagocytowane przez makrofagi. Nie wszystkie jednak przetrwalniki są niszczone i paradoksalnie – makrofagi, które powinny zwalczać bakterie przenoszą przetrwalniki w głąb organizmu do węzłów chłonnych tchawicy i oskrzeli. Tam następuje kiełkowanie endospor, proces ten może nastąpić nawet po 60 dniach od momentu zetknięcia się z bakteriami. Kiedy w organizmie pojawiają się wegetatywne komórki *B. anthracis* wytwarzające toksynę, choroba zaczyna rozwijać się w dość szybkim tempie. Chory ma ogólnie złe samopoczucie podobnie jak w przypadku grypy; typowe symptomy to gorączka, bóle mięśni, bóle głowy i suchy kaszel. Po tych objawach u niektórych osób często następuje krótki pozorny okres poprawy trwający od 1 do 3 dni, po którym rozwija się druga, ostra faza choroby. Pojawia się wówczas wysoka gorączka, zapalenie śródpiersia i krwotoczny obrzęk płuc. W niektórych przypadkach dochodzi także do zapalenia opon mózgowych. Jeśli chory nie został poddany leczeniu na 48 godzin przed pojawieniem się objawów ostrej fazy zakażenia w 95% przypadków następuje śmierć.

B. anthracis

Leczenie

- **ANTYBIOTYKI:**

- ◇ ciprofloksacynę (Ciprofloxacin) - fluorochinolonem II generacji, hamuje gyrazę

- ◇ doksycyklinę (Doxycycline, Wibramycyna) - tetracyklina

- ◇ Amoksycylinę (Amoxycyline) dla kobiet w ciąży, karmiących, małych dzieci po 2-3 tygodniach brania ciprofloksacyny lub doksycyliny

(Rosjanie wyprodukowali szczepy *B. anthracis* odporne na działanie tetracykliny oraz penicyliny.)

- **SZCZEPIONKA:** ma sens, jeśli będzie dostępna

Dlaczego nie uodparniamy masowo ludzi ?

- Nie ma idealnej szczepionki
- grupy ryzyka - żołnierze USA
- Gulf Syndrome

B. anthracis

Jeśli nastąpił atak

- szkodliwość aerozolu zależy w dużej mierze od warunków atmosferycznych
- dekontaminacja - woda z mydłem - w przypadku ciała (prysznic !!!), powierzchni można dezynfekować 0,05 - 0,1% roztworem podchlorynu
- wszyscy eksponowani powinni dostać antybiotyki
- szczepienie toksoidem nie ma sensu → odporność pojawia się dopiero po kilku miesiącach
- chorzy, nawet na postać płucną nie są zakaźni (!!!), lecz wymagają opieki medycznej