

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

BIOTERRORIZAM – NEKAD I DANAS
BIOTERRORISM – PAST AND PRESENT
SEMINARSKI RAD

Ana Hrgovčić

Preddiplomski studij biologije

(Undergraduate Programme in Biology)

Mentor: doc. dr. sc. Martina Šeruga Musić

Zagreb, 2011.

SADRŽAJ

1. UVOD	2
2. ŠTO JE BIOTERORIZAM?..	3
3. POVIJEST BIOTERORIZMA	4
4. BIOLOŠKI AGENSI	7
4.1. ANTRAKS.....	7
4.1.1. UZROČNIK.....	9
4.1.2. PATOGENEZA INFEKCIJE ANTRAKSOM.....	10
4.2. KUGA.....	11
4.2.1. UZROČNIK.....	13
4.2.2. PATOGENEZA INFEKCIJE.....	14
4.3. TULAREMIA.....	14
4.3.1. UZROČNIK.....	15
4.3.2. PATOGENEZA INFEKCIJE.....	16
4.4. BOGINJE.....	16
4.4.1. UZROČNIK.....	17
4.4.2. PATOGENEZA INFEKCIJE	17
4.5. BOTULIZAM.....	19
5. GENETIČKI INŽENJERING I MOGUĆNOSTI ZLOUPOTREBE	21
6. ZAKLJUČAK	22
7. LITERATURA.....	23
8. SAŽETAK.....	25
9. SUMMARY.....	25

1. UVOD

U vremenu u kojem živimo, terorizam nažalost nije dio nekog paranoičnog scenarija, već opipljiva i zastrašujuća stvarnost. Od napada na World Trade Center prošlo je deset godina, a zapadni svijet se još nije oporavio od šoka spoznaje da svijet u kojem smo se osjećali sigurno i zaštićeno to uopće nije. Napadi na Madrid, London, pa i nedavni ubilački pohod u Norveškoj pokazali su nam da terorizam nije rezerviran za neke daleke i nesigurne zemlje, već djeluje i u našem susjedstvu. Razvoj tehnologije, znanosti i komunikacija donio je i neke neželjene posljedice. Pojedinci ili grupe koji radikalnim metodama žele ostvariti svoje ciljeve, lakše dolaze do znanja i materijala potrebnih da bi to i izvršili.

Nedugo nakon rušenja WTC-a, SAD je pogodio još jedan napad, ovaj put bioteroristički napad antraksom. Broj žrtava je srećom bio mnogo manji nego što je to mogao biti, ali su zato psihološke posljedice bile nemjerljive. Javnosti je privučena pozornost na opasnost od bioterorizma, upotrebe nepredvidivih prirodnih oružja strašnijih od onih koje je proizveo čovjek.

Mogućnosti koje nam pruža današnja znanost i tehnologija otvaraju vrata manipulaciji i reprogramiranju mnogih bioloških agensa za koje smo do sada imali učinkovitu obranu, ali i stvaranju novih dizajniranih organizama i toksina.

U ovom seminarskom radu razmotrit ću prvo što je to terorizam općenito, a što biološki terorizam, zatim povijest biološkog ratovanja, neke moguće agense i njihova svojstva, i na kraju opasnosti koje nam može donijeti moderna znanost i tehnologija kada ih se zloupotrijebi.

2. ŠTO JE BIOTERORIZAM?

Bioterorizam je oblik terorizma kod kojeg dolazi do korištenja bakterija, virusa, toksina i drugih opasnih agensa s namjerom da se izazove bolest ili smrt ljudi, životinja ili biljaka. Za razliku od korištenja bioloških agensa u ratovanju, bioterorizam označava uporabu istih od strane pojedinca ili grupe motiviranih političkim, religioznim ili nekim drugim ideološkim razlogom, s namjerom da se zastraši javnost ili vlast ili proizvede ekonomska šteta (<http://www.bt.cdc.gov/bioterrorism/overview.asp>). Korištenje biološkog oružja u svrhu terorizma praktičnije je nego njegova uporaba u ratu na bojnopolju, jer je teško izbjeći štetu na vlastitim snagama.

Biološke agense moguće je pronaći u prirodi, ali se mogu i modificirati genetičkim inženjeringom kako bi postali virulentniji, otporni na lijekove koji su trenutačno u upotrebi, ili kako bi rezultirali većom štetom. Zaraza se može širiti zrakom, vodom, hranom ili od osobe do osobe.

Ovakav oblik terorizma teško je detektirati prije nego se dogodi bolest, do kad može proći više sati pa čak i dana. Biološke agense relativno je lako nabaviti ili proizvesti, jednostavno je njima rukovati i raspršiti ih po velikom području trovanjem vode, hrane, rasprskavanjem sprejevima ili eksplozivnim napravama, lako se repliciraju i šire sami, a psihološki efekt na stanovništvo višestruko je efikasniji od stvarnog učinka zaraze. Efektivnost upotrijebljenog agensa ovisi o mnoštvu čimbenika; ako se radi o agensu koji se raspršuje zrakom bitna je stabilnost atmosfere, smjer i jačina vjetrova, veličina infektivnih čestica i njihova otpornost na vanjske uvjete, a raspršivanje eksplozivnim napravama može inaktivirati čestice; za kontaminaciju vodovoda potrebna je velika količina agensa i ispuštanje nakon prolaska vode kroz sustav pročišćavanja.

Ovaj oblik terorizma nije do sada bio u upotrebi kao neke druge metode, no mogućnosti terorističkih organizacija postaju sve veće, a lakoća korištenja prirodnog oružja stvara opravdanu zabrinutost među znanstvenicima, sigurnosnim i zdravstvenim djelatnicima.

3. POVIJEST BIOTERORIZMA

Povijest upotrebe bioloških agenata u ratovanju seže čak do 6. stoljeća prije Krista, do starih Asiraca i Grka, koji su koristili otrovne biljke i gljivice kako bi zarazili izvore vode. U srednjem vijeku, mongolski osvajači katapultirali su tijela zaražena kugom preko zidova trgovačkog grada Kaffe, a trgovci su prenijeli bolest u Italiju odakle je „Crna smrt“ poharala Europu i odnijela 75 milijuna života. Za osvajanja Novog svijeta, engleski su doseljenici zarazili domoroce boginjama, dajući im pokrivače svojih oboljelih, kako bi stekli prednost nad Francuzima koji su bili u savezništvu s Indijancima.

Tijekom Prvog svjetskog rata, Njemačka je pokušala spriječiti Savezničko napredovanje zaražavanjem stoke koja je iz Amerike prevožena u Englesku antraksom i sakagijom, no to im nije donijelo nikakvu prednost. Puno razornijima su se pokazali napadi kemijskim oružjem, uglavnom bojnim plinovima, pa je 1925. potpisan Ženevski protokol

kojim se zabranjuje uporaba biološkog i kemijskog oružja u ratovanju. To nije spriječilo Japance koji su tijekom Drugog svjetskog rata intenzivno radili na razvijanju kolere, antraksa, kuge i tifusa. Specijalni odjel japanske vojske, nazvan Odjel 731, radio je na testiranju oružja na ratnim zarobljenicima u Kini i Mandžuriji, no Japancima nije uspjelo pronaći dobro rješenje za upotrebu na



bojnom polju. U isto vrijeme, Britanci

Slika 1: Plinske maske u Prvom svjetskom ratu (flickr.com)

provode eksperimente na otoku Gruinardu, blizu Škotske, gdje su ovce zaražene virulentnim sojem antraksa, nakon čega su uginule u roku od nekoliko dana. Otok je dekontaminiran tek 1990.

Tijekom hladnog rata, razvijani su projekti za istraživanje i na američkoj i na sovjetskoj strani. Amerikanci su proizvodili bombe punjene sporama antraksa i na botulinum toksinu, a također su radili i na proizvodnji cjepiva u slučaju napada. Rezultati istraživanja nisu nikada iskorišteni, a američki predsjednik Nixon potpisao je 1969. zabranu uporabe

biološkog oružja pa su uništene i zalihe. Članice UN-a 1972. potpisale su Konvenciju o biološkom oružju kojom se obvezuju na prestanak proizvodnje, skladištenja i uporabe kemijskog i biološkog oružja. Međutim, Sovjetski savez nastavio je raditi na istraživanjima o mogućnostima stvaranja novih superbakterija i virusa koji će biti otporni na tada poznate antibiotike. U ruskoj tvornici u Sverdlovsku 1979. došlo je do katastrofe gdje su u zrak ispuštene spore različitih sojeva antraksa, a od posljedica je umrlo 66 ljudi. Istraživanja su prestala raspadom Saveza 1991. godine (Phillips 2005).

Bioterrorizam, za razliku od ratovanja biološkim oružjem, počeo se razvijati u dvadesetom stoljeću. Male terorističke grupe počele su uviđati privlačnost biološkog oružja. U SAD-u 1984. sljedbenici Bagwan Shree Rajneesha zarazili su bakterijom roda *Salmonella* hranu u 10 restorana u Oregonu, što je rezultiralo stotinama slučajeva trovanja.

Japanski kult Aum Shinrikyo u Tokiju u nekoliko je navrata pokušao pustiti spore antraksa, svaki put neuspješno, međutim, kada su 1995. pustili neurotoksin u podzemnoj željeznici, to je rezultiralo s nekoliko ljudskih žrtava. Isti kult 1992. pokušao je doći u posjed Ebola virusa nakon što se isti proširio na području tadašnjeg Zaira.

Spore antraksa upotrijebljene su kao prijetnja i kao stvarni napad više puta u povijesti. Najpoznatiji napad dogodio se u SAD-u 2001. godine od strane još nepoznatog počinitelja.



Slika 2: Pisma sa sporama antraksa iz napada 2001.

(<http://www.spiritoftruth.org/images/anthraxletters.jpg>)

Ovi primjeri pokazali su kako je nužno educirati i pripremiti zdravstvene i civilne djelatnike na mogućnost napada i upotrijebiti sve znanje dostupno znanstvenicima i liječnicima kako bi se posljedice mogućeg napada ublažile. Također, potrebno je educirati javnost kako ne bi došlo do širenja nepotrebne panike i otežavanja rada javnih službi.

4. BIOLOŠKI AGENSI

Prema američkom Centru za kontrolu i prevenciju bolesti (*Center for Disease Control and Prevention, CDC*) razlikujemo tri kategorije bioloških agensa (<http://www.bt.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp>):

A kategorija - najopasniji agensi; lako se prenose i šire, rezultiraju visokom smrtnošću, imaju potencijalno velik utjecaj na zdravlje ljudi i šire paniku među populacijom. U njih spadaju tularemia, antraks, velike boginje, botulizam, kuga i virusna hemoragijska groznica.

B kategorija - umjereno lako se šire i imaju nisku smrtnost: bruceloza, salmonela, sakagija, melioidoza, ricin toksin, tifus, Q-groznica, virusni encefalitis, kolera, ...

C kategorija - patogeni koji su lako dostupni, a potencijalno mogu biti modificirani u opasne agense: HIV, SARS, H1N1, hantavirus, Nipah-virus, ...

4.1. ANTRAKS ILI BEDRENICA

Antraks ili bedrenica je nekontagiozna zarazna bolest životinja, uglavnom preživača, koja se na čovjeka prenosi kontaktom sa životinjama ili njihovim proizvodima, a njen uzročnik je bakterija *Bacillus anthracis* (Alibek, 2005).

Prvi spomeni antraksa pojavljuju se još u biblijskim spisima i antičkoj književnosti. Vergilije u svojim Georgikama spominje bolest koja je pokosila stada ovaca na farmama i ljude koji su imali dodira sa zaraženim životinjama, a manifestirala se groznicom i čirevima na koži. Periodične provale bolesti događale su se u Europi kroz povijest, primjerice na prostoru Njemačke u 14. stoljeću, ili u Rusiji u 17. stoljeću, nanoseći veliku ekonomsku štetu na stadima ovaca i goveda.

Krajem 18. stoljeća znanstvenici su počeli pomnije proučavati pojave bolesti povezane s uvozom vune iz Azije i Južne Amerike. Sredinom 19. stoljeća francuski dermatolog Pierre Françoise Rayer i parazitolog Casimir Joseph Devaine otkrili su prisutnost nitastih tjelešaca u krvi ovaca zaraženih antraksom, što su kasnije potvrdili i neki engleski i njemački znanstvenici. Njemački liječnik Robert Koch 1859. ubrizgao je krv uzetu iz slezene

zaražene životinje zdravim miševima koji su potom oboljeli i uginuli, dok su miševi kojima je ubrizgana krv zdravih životinja preživjeli. Taj pokus dokazao je da se u krvi nalaze infektivne tvari. Koch je uspio izolirati čistu kulturu bakterije *Bacillus anthracis* i inokulirati je životinjama koje su također uginule. Otkrio je i da bakterija u nepovoljnim uvjetima stvara izdržljive spore.

William Greenfield je 1880. uspješno cijepio stoku protiv antraksa, no zbog političkih i financijskih razloga nije mogao objaviti svoje otkriće pa je zasluga za prvo cjepljenje protiv antraksa pripala Louisu Pasteuru koji je to učinio godinu dana kasnije. Kao rezultat tog otkrića i povećane higijene u industriji vune smanjen je broj pojava bolesti i smrtnih slučajeva među ljudima.

Antraks spada među najopasnije biološke agense zbog nekoliko svojih karakteristika. Lako ga je proizvesti, može se dugo čuvati i stabilan je u okolišu. Spore imaju visoku stopu preživljavanja i mogu se koristiti u eksplozivnim napravama, a smrtnost od antraksa, pogotovo plućnog oblika je vrlo velika.

Kao oružje, antraks se koristi od Prvog svjetskog rata kada su njemačke vlasti organizirale zaraživanje stoke namjenjene savezničkim snagama na europskom bojištu.

Neposredno prije početka Drugog svjetskog rata japanska vlada započela je s ofenzivnim programom razvoja biološkog oružja osnivanjem posebne skupine nazvane Odjel 731, koja je među ostalim razvijala i rasprskavajuće bombe za širenje antraksa, pa čak i čokoladu zaraženu sporama.

Krajem 1940.-e Velika Britanija započela je svoja istraživanja, testirajući raspršivanje spora po stadima ovaca na otoku Gruinard uz obale Škotske. Churchill je 1941. odobrio „Project Vegetarian“, projekt inficiranja antraksom goveda na području Njemačke kao odmazde u slučaju Njemačkog napada. Proizvedena stočna hrana nije nikad upotrebljena, a Velika Britanija uskoro je počela suradnju s Kanadom i SAD-om. Britanci su dizajnirali, Kanađani testirali, a Amerikanci proizvodili eksplozivne naprave s antraksom, međutim, ništa od toga nije upotrijebljeno.

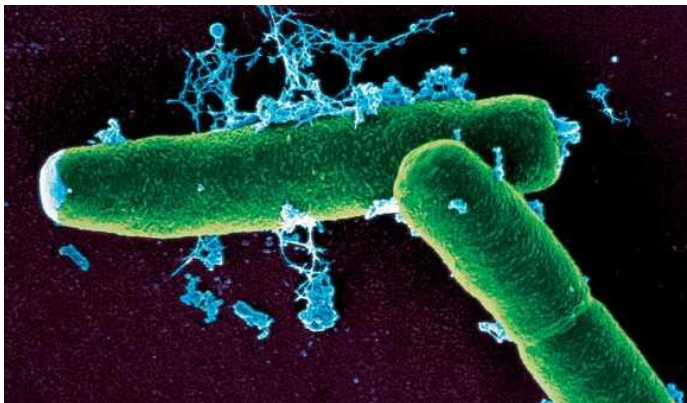
Najintenzivnija proizvodnja biološkog oružja događala se u Sovjetskom savezu. Postojala su tri postrojenja za proizvodnju antraksa – Sverdlovsk, Penza i Kurgan od kojih je jedino Sverdlovsk bio stalno aktivan (Alibek, 2005).

U novije vrijeme, antraks su počeli koristiti teroristi i terorističke grupe. Sumnjivi paket dostavljen je u Engleski centar za kemijsku obranu 1981., a sadržavao je uzorke zemlje s otoka Gruinard.

Sredinom 80.-ih godina prošlog stoljeća japanski kult Aum Shinrikyo počeo je razvijati antraks, a zatim su tri puta pustili spore na prometnim mjestima u Tokiju, srećom bez žrtava.

Najpoznatiji teroristički napad antraksom dogodio se u SAD-u u rujnu 2001. godine. Na dane 18. rujna i 9. listopada poslana su po dva pisma koja su sadržavala spore antraksa prvo uredništvima NBC-a i New York Posta, a zatim dvojici američkih senatora. Kao rezultat toga zaraženo je dvadeset dvoje ljudi, kožnim i plućnim antraksom, od čega je petero ljudi umrlo, a počinitelji nikada nisu otkriveni.

4.1.1. UZROČNIK



Slika 3: Bakterija *Bacillus anthracis*
(pharmig.blogspot.com)

Bacillus anthracis je Gram-pozitivna, nepokretna, fakultativno anaerobna bakterija štapićastog oblika koja stvara spore, a spada u porodicu *Bacillaceae*. Sporulacija zahtjeva prisutnost kisika i događa se u doticaju sa zrakom. Spore su otporne na visoku temperaturu, UV i ionizirajuće zračenje, tlak i kemijske agense. U tlu mogu preživjeti i desetljećima, a u povoljnim uvjetima započinju vegetiranje i umnožavanje. Sami bacili su osjetljivi i ne mogu opstati izvan domaćina. Spore nakon ingestije u domaćinu stvaraju vegetativni oblik i propagiraju se. Vegetativni oblik ima kapsulu sastavljenu od linearnog polimera D-glutaminske kiseline, koja je slabo pričvršćena uz bakterijsku stijenku, a omogućava bakteriji da izbjegne fagocitozu (Alibek, 2005).

Kromosom bakterije *B. anthracis* ima mnogo potencijalnih gena za virulentnost koji su zajednički s nekim drugim bakterijama iz roda *Bacillus*. Glavni virulentni geni se nalaze na plazmidima kojih kod Ames soja, koji je u potrebljen u terorističkom napadu u SAD-u, ima

dva, zovu se pX01 i pX02, a nose gene za letalni i edema toksin i kapsulu. Genom bakterije *B. anthracis* sadrži i mnoge gene koji kodiraju za neke faktore koji pridonose patogenosti bakterije, kao na primjer hemolizini, fosfolipaze, proteaze, katalaze, ...

4.1.2. PATOGENEZA INFEKCIJE ANTRAKSOM

Znanje o procesu infekcije bakterijom *B. anthracis* dolazi uglavnom od pokusa na majmunima i drugim neprimatima. Bolest započinje ulaskom spora u tijelo domaćina putem rana na koži, jedenjem zaraženog životinjskog mesa ili inhalacijom spora. Postoje 4 oblika infekcije kod ljudi: kožni, plućni, gastrointestinalni i orofaringealni, a svi se mogu razviti u fatalni sistemski antraks.

Makrofagi igraju glavnu ulogu u razvoju inhalacijskog antraksa. spore koje dospiju u alveole pluća bivaju pojedene od strane alveolarnih makrofaga, no čini se da



Slika 4: Spore antraksa (microbiologyonline.org.uk)

jedan dio spora uspije svladati obranu imunskog sustava i počne klijati u makrofazima umjesto da bude uništen. Nakon što spore prokliju u makrofazima i nastanu vegetativni oblici bakterije, makrofazi ih prenesu u lokalne limfne čvorove. Vegetativne bakterije razvijaju kapsulu i uspješno uništavaju stanične membrane i izlaze iz makrofaga. U limfnim čvorovima brzo se repliciraju i produciraju virulentne faktore koji uzrokuju infekciju, odumiranje tkiva, edem i krvarenje – bakterijske toksine moguće je detektirati u limfi prije nego u krvotoku (<http://www.bt.cdc.gov>).

Bakterije zatim dopijevaju u krvotok gdje imaju optimalne uvjete za neograničeno razmnožavanje, a krv ih raznosi do mozga gdje mogu uzrokovati hemoragični meningitis.

Kada jednom bakterije izađu iz makrofaga, nema dokaza o adekvatnom imunološkom odgovoru na infekciju, a pretpostavlja se da je to zbog učinkovite zaštite od bijelih krvnih stanica koju pruža bakterijska kapsula .

Gastrointestinalni oblik antraksa nastaje kao rezultat konzumacije nedovoljno termički obrađenog zaraženog mesa. Spore ulaze u limfne žile kroz mukozu ili preko fagocita i odlaze u lokalne limfne čvorove odakle dalje teče infekcija kroz peritonealnu šupljinu ili krvotok.

U prirodnim uvjetima, najčešći oblik je onaj kožni. Na mjestu ulaska bakterije javlja se prvo svrbež, a zatim nastaje lezija slična čiru, crne boje koja je bezbolna. Kožni oblik lako se liječi jer je infekcija ograničena na mali prostor na površini tijela i daleko od vitalnih organa.

Uzrok smrti kod infekcije antraksom nije jedinstven za sve slučajeve – postoji više hipoteza i čini se da je rezultat mnogih faktora koji su posljedica sistemske infekcije, propadanja tkiva i krvarenja. Scenariji uključuju trombozu kapilara, otkazivanje bubrega, plućni edem i otkazivanje pluća, meningitis, uništenje krvnih žila itd.

U slučaju terorističkog napada najveća vjerojatnost je razvijanje plućnog antraksa uz manji broj kožnog oblika, jer je raspršivanje spora zrakom najvjerojatniji način napada. Antraks se ne prenosi od osobe do osobe, ali je moguća zaraza sporama koje zaražena osoba nosi na odjeći. Cjepivo protiv antraksa razvijeno je iz nevirulentnog soja bakterije, a u slučaju već postojeće infekcije za liječenje infekcije koriste se antibiotici: penicilin, vankomicin, eritromicin i sl.

4.2. KUGA

U protekla dva tisućljeća tri dobro dokumentirane pandemije kuge pogodile su Europu i svijet. Prva se dogodila sredinom 6. stoljeća, šireći se iz sjeverne Afrike preko Mediterana, Rimskog carstva i Bizanta. Srednjovjekovna „Crna smrt“ iz centralne Azije brodovima je prenešena na Siciliju odatle se proširila po Europi sve do Londona, a do 1352. ubila je 30% zahvaćene populacije.

Treća, moderna pandemija, krenula je iz Kine sredinom 19. stoljeća, a štakori na brodovima prenijeli su ju po lukama diljem svijeta. Do 1930. umrlo je 12 milijuna ljudi od 36 milijuna oboljelih. U ove tri pandemije prevladavajući oblik je bila bubonska kuga s pojavama opasnijeg i virulentnijeg plućnog oblika koji omogućuje širenje od osobe do osobe preko kapljica sline tijekom kašlja ili kihanja (Dennis, 2005).

Povećana sanitacija i higijena te moderna medicina smanjili su pojavu u modernim vremenima iako bacili kuge još uvijek kruže kroz neke populacije glodavaca. Bubonski oblik uspješno se liječi, dok je plućni još uvijek fatalniji i opasniji.

Ideja korištenja kuge kao oružja nije moderna, tako je u srednjovjekovnom ratovanju korišteno katapultiranje leševa ljudi umrlih od kuge preko gradskih zidina okupiranih gradova.



Slika 5: Srednjovjekovni liječnik sa zaštitnom maskom (wikimedia.org)

Za vrijeme Drugog svjetskog rata, Japanska vlada eksperimentirala je na ljudskim subjektima istražujući mogućnosti korištenja ovog biološkog agensa, a zabilježeno je i ispuštanje inficiranih populacija buha na kineska sela što je uzrokovalo lokalne provale bolesti.

Tijekom hladnog rata i SSSR i SAD imali su aktivne istraživačke programe koji su pokušavali pronaći način za učinkovito korištenje bakterije *Yersinia pestis* u vojne svrhe. Svjetska zdravstvena organizacija 1970. upozorila je na opasnost ovakvog manipuliranja zbog iznimne virulentnosti bolesti i brzog širenja. Unatoč upozorenju Sovjetski savez nastavio je svoje programe do 1990., a nije poznato jesu li zalihe nagomilane tijekom godina istraživanja uništene.

Pretpostavke su da bi mogući teroristički napad mogao biti izvršen raspršivanjem bakterije *Y. pestis* aerosolom, što bi moglo rezultirati većim postotkom plućnog oblika bolesti. Zbog ozloglašnosti kuge vjerojatnost je da bi došlo do širenja panike među stanovništvom čak i u slučajevima manjih provala bolesti.

4.2.1. UZROČNIK

Yersinia pestis je Gram-negativni, mikroaerofilni, pleomorfni kokobacil iz porodice *Enterobacteriaceae*, na razmazima prisutna u jednostaničnom obliku ili u kratkim lancima, nepokretna je i ne stvara spore. Otkrivena je 1894. tijekom epidemije u Hong Kongu, a otkrio ju je švicarski liječnik Alexandre Yersin. Primarni vektor ove bakterije je vrsta buhe *Xenopsylla cheopis* koja živi na štakorima koji su također žrtve zaraze. Zaraze ljudi događaju se zbog ugriza buha koje su prije toga grizle zaražene štakore. Bakterije se razmnožavaju u probavnom sustavu buhe i stvaraju čep koji sprečava buhu da se nahrani pa ona nastavlja tražiti hranu i tako prenosi zarazu na više domaćina (Dennis, 2005).

Bakterija može rasti na različitim temperaturama i pH vrijednostima, obično sporo raste u kulturi i kolonije su vidljive nakon 24 sata inkubacije na 28°C. In vitro je podložna na tetracikline, kloramfenikol, sulfonamide, etc., iako su neki izolirani sojevi bili otporni na uobičajene antibiotike, srećom javljali su se vrlo rijetko.



Genetička istraživanja pokazala su da je *Y. pestis* evoluirala relativno nedavno (prije 1 500 – 20 000 godina) iz *Y. pseudotuberculosis* stekavši sposobnost razvoja u organizmu sisavaca i razmnožavanja u probavnom sustavu buha. Bakterija postoji u tri podtipa: Antiqua, Medievalis i Orientalis, koja odgovaraju trima povijesnim pandemijama (Dennis, 2005).

Y. pestis je jedna od najpatogenijih poznatih bakterija, fakultativno je intracelularna i inače se razvija u ekstracelularnim uvjetima, no njena virulentnost ovisi o invaziji i multipliciranju unutar stanice, obično fagocita koji transportira bakteriju u početnim fazama infekcije. Kromosomalni i plazmidni geni zaslužni su za adaptabilnost na različite domaćine, svladavanje imunosne obrane – fagocitoze i izazivanje upalnog procesa u limfnim čvorovima.

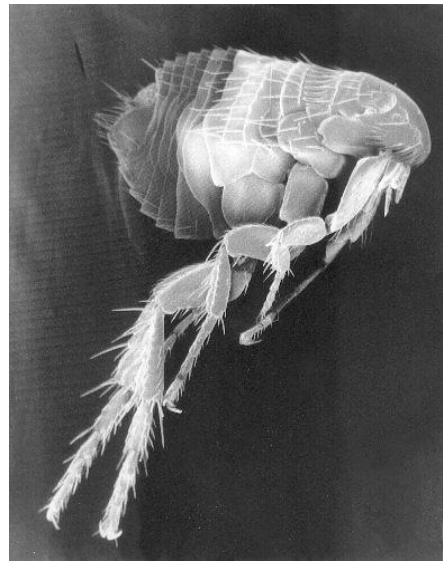
4.2.2. PATOGENEZA INFEKCIJE

Simptomi infekcije bakterijom *Y. pestis* ovise o putu njenog ulaska u organizam. Bakterije inokulirane kroz kožu ili mukoznu membranu transportirane su do limfnih žila i regionalnih limfnih čvorova gdje se razmnožavaju. U ranom stadiju i limfnim čvorovima nastaju edemi, upalni procesi, nakupljanje neutrofilnih leukocita, a kako infekcija napreduje limfni čvorovi postaju puni bakterija i dolazi do razaranja žila i nekroze tkiva. Nakuplja se tekućina, obično pomiješana s krvlju i nastaju „buboni“ – okrugle natečene mase na mjestu limfnih čvorova koje u kasnim stadijima mogu prsnuti.

Ako se infekcija ne liječi, može zahvatiti gotovo sve organe i proširiti se po cijelom organizmu pa dolazi do općeg propadanja tkiva, gangrene udova, nekroze jetre, slezene, zgrušavanja krvi, meningitisa, što sve dovodi do smrti.

Plućna infekcija počinje u alveolama u kojima se nakupljaju bakterije i razmnožavaju se u plućnim izlučevinama, te se dalje šire po plućima dovodeći do propadanja plućnog parenhima.

Cjepivo protiv kuge radi se od živog atenuiranog soja bakterije ili mrtvih stanica.



Slika 7: Buha *Xenopsylla cheopis*, vektor (wikipedia.org)

4.3. TULAREMIJA

Tularemiya je bolest uzrokovana infekcijom bakterijom *Francisella tularensis*, a poznata je još i kao zečja groznica. Uglavnom zahvaća životinje – zečeve i druge glodavce, neke ptice, a zahvaća ljude koji su u direktonom kontaktu sa zaraženim životinjama ili ih je ugrizao neki od artropodnih vektora bolesti (Hodges, Penn: Tularemia and Bioterrorism, 2005.).

Vojna povijest ove bolesti kreće s Japancima koji su 1932. započeli s pokusima na ratnim zarobljenicima. SAD i SSSR razvijaju programe proučavanja tularemije i proizvode sojeve otporne na streptomycin. Postoje indicije da su provale bolesti na istočnom bojištu

tijekom Drugog svjetskog rata namjerno izazvane, te da su istraživanja na sojevima *F. tularensis* otpornima na cjepivo i antibiotike produžena i nakon 1990. godine.

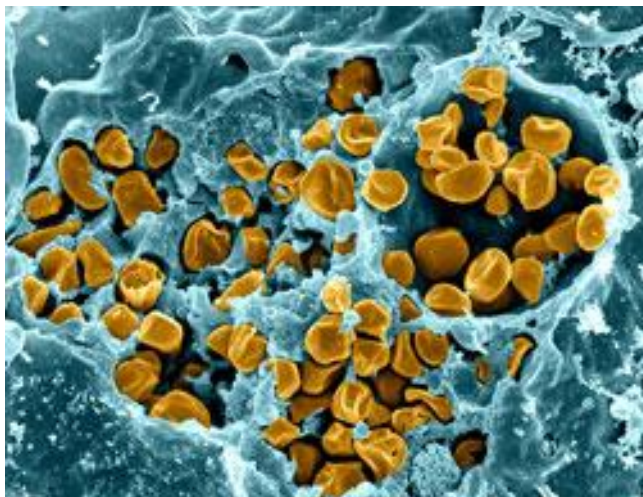
SAD je provodio pokuse na životinjama i ljudima istražujući učinkovitost cjepiva, no nakon 1972. sve zalihe patogena su uništene. Američki CDC klasificira tularemiju kao agens kategorije A zbog lakoće raspršivanja, potencijalne patogenosti i utjecaja na zdravlje stanovništva i javni red i mir, no *F. tularensis* ipak nije toliko prikladna za uporabu kao bioteroristički agens jer nema stabilne spore i teško je rukovati njome bez da se zaraze i počinitelji. Ako dođe do bioterorističkog napada, to će se najvjerojatnije dogoditi raspršivanjem putem aerosola u gusto naseljenom području, a u tom slučaju čak ni cijepljeni pojedinci neće biti u potpunosti zaštićeni.

4.3.1. UZROČNIK

Francisella tularensis je mali, aerobni, pleomorfni Gram-negativni kokobacil veličine 0.2 – 0.7 μm . Specifična osobina ove bakterije jest stanična stijenka koja sadrži lipide i to više od 50% ukupnog sastava. *F. tularensis* je jedini rod porodice *Francisellaceae*, prije je bila svrstana u rod *Pasteurella* skupa s *Y. pestis* – obje uzrokuju životinjske bolesti, a uzrokuju groznicu i limfademopatiju kod ljudi koji su slučajni domaćini.

Bakterija može preživjeti u tlu i leševima tjednima, a mjesecima u vodi i mulju. Artropodni vektori najčešće su komarci i krpelji.

F. tularensis ima 4 podvrste koje se razlikuju po epidemiologiji, biokemijskim reakcijama i virulenciji. To su *tularensis*, *holarctica*, *novicida* i *mediaasiatica*. Prve dvije podvrste spadaju u ljudske patogene, *F. tularensis tularensis* je najvirulentniji



Slika 8: *Francisella tularensis*(<http://www.upmc-biosecurity.org>)

oblik i naziva se još tip A, a obično se pojavljuje u Sjevernoj Americi, dok je *F. tularensis holarctica* blaži tip B i javlja se češće u Europi i Aziji (Hodges, 2005).

Bakterija ne posjeduje toksine tipične za primjerice bakterije roda *Yersinia*, *Shigella* i *Legionella*, već se čini da je njena virulentnost posljedica sposobnosti da izbjegne imunološku obranu domaćina. Kapsula bogata lipidima štiti od lize u ekstracelularnom okruženju, a nije toksična i ne izaziva imunološki odgovor.

4.3.2. PATOGENEZA INFEKCIJE

F. tularensis sposobna je preživjeti i razmnožavati se unutar makrofaga i drugih stanica. Dobro je prilagođena an intracelularni okoliš – zakiseljava vakuolu i tako stvara uvjete za pribavljanje željeza. Nakon uspješne multiplikacije izaziva smrt stanice domaćina apoptozom.

Zaraza kod ljudi obično se događa zbog ugriza kukca zaraženog bakterijom ili kroz ranu na koži. Inkubacija traje 2-5 dana nakon čega se pojavljuju male crvene lezije na mjestu infekcije koje se s vremenom povećavaju i pretvaraju u čir. Lezije se obično pojavljuju na gornjim ekstremitetima, licu, očima i ustima. Bakterija nastanjuje lokalne limfne čvorove i mogu nastati buboni slično kao kod kuge.

Uskoro se infekcija širi na organe, stvaraju se nekroze na jetri, slezeni, plućima, dolazi do smrti jer se čirevi otvaraju u krvne žile i limfne žile pa nastaju nekroze koštane srži, bubrega, meninga i mozga.

4.4. BOGINJE

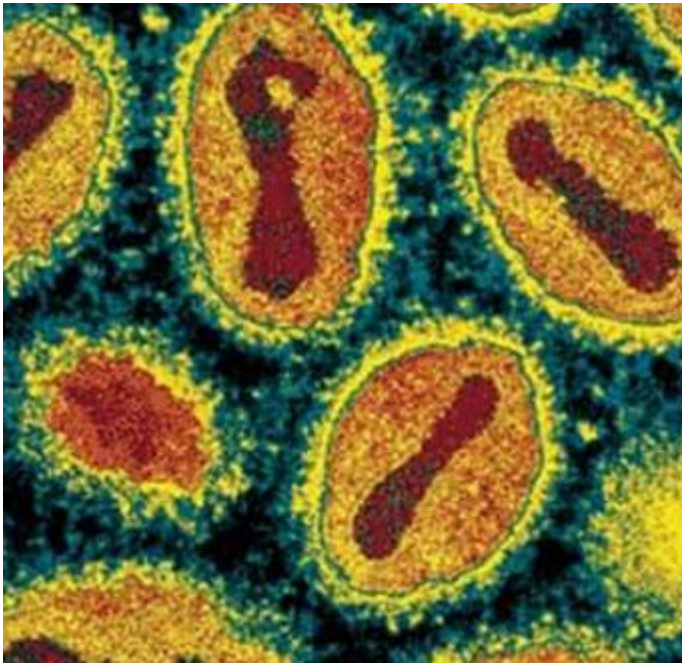
Jedna od dvije bolesti koje su potpuno istrijebljene spada u 6 bioloških agensa kategorije A, tj. u najvjerojatnije i najozbiljnije kandidate za bioterorizam. Karakteristike koje joj to omogućavaju su mogućnost proizvodnje patogena u velikim količinama, širenje respiratornim putem i smrtnost od 30% uz nepostojanje učinkovite terapije.

Vjeruje se da se bolest pojavila u judskoj populaciji otprilike 10 000 godina prije Krista. Najraniji fizički dokaz bolesti vjerojatno je osip na mumificiranom tijelu egipatskog faraona Ramzesa V. Nakon prakse cjepljenja kroz 19. i 20. stoljeće naporima Svjetske

zdravstvene organizacije bolest je u potpunosti istrijebljena iz ljudske populacije i cijepljenje se više ne provodi (wikipedia.org).

4.4.1. UZROČNIK

Variola major je virus, uzročnik boginja i spada u orthopox viruse, skupa s *Variolom minor*, svojim manje opasnim rođakom. To je veliki DNA virus (350 x 270 nm) s jednim od najkompleksnijih genoma među ljudskim virusima. Ljudi su jedini domaćini, iako su uspješno provedene eksperimentalne zaraze majmuna velikim intravenoznim dozama patogena (Lane, 2005).



Genom orthopox virusa podložan je delecijama i adicijama pa znanstvenici smatraju da bi se virus boginja mogao rekreirati sintezom dugih lanaca DNA što ga čini ozbiljnim kandidatom za bioteroristički napad. Osjetljiv je na toplinu i UV zračenje, ali ako se zaštiti od toga moguće ga je uspješno aerosolizirati.

Slika 9: *Variola major*

(<http://textbookofbacteriology.net>)

4.4.2. PATOGENEZA

Širenje virusa je najefektivnije u suhim i hladnim uvjetima jer respiratorne kapljice brzo ispare i ostaju tek mikroskopske kapljice koje su suspendirane u zraku. U prirodnim uvjetima virus se ne širi brzo kroz populaciju, jer je potreban duži kontakt licem u lice (<http://emergency.cdc.gov>).

Infekcija se događa respiratornim putem, prvih 4-5 dana nakon infekcije virus se umnožava u epitelu gornjih dišnih puteva, a zatim ulazi u krvotok i umnaža se ponovo u retikuloendotelijalnom sustavu. 8-9 dana nakon početne infekcije stanice retikuloendotelijalnog sustava ispuštaju drugu viremiju i javljaju se simptomi – vrućica, mialgija.

Sekundarna viremija završava akumulacijom virusa u malim krvnim žilama derme i epitelija gornjih dišnih puteva. Razvijaju se kožne lezije pune virusa, a prijenos bolesti omogućen je pucanjem lezija u grlu i nosu gdje epitel nije keratiniziran. Kako lezije postaju gušće i sjedinjuju se, postotak smrtnosti se povećava i pacijenti postaju infektivniji.

Bolest kod cijepljenih pacijenata se može razviti, ali je blagog oblika, iako se simptomi povećavaju što je prošlo više godina od cijepljenja. Ako se pacijenti oporave od bolesti steknu imunost i nisu više infektivni.

Kako od 1977. nije bilo slučajeva bolesti, svaka nova pojava morala bi biti rezultat bioterorističkog napada ili slučajnog ispuštanja patogena iz jednog od dva laboratorija koja posjeduju virus.

Nema dobro dokumentiranih pokušaja uporabe boginja kao oružja. Postoje zapisi iz vremena osvajanja Sjeverne i Južne Amerike o pokušajima korištenja virusa protiv starosjedilačkog stanovništva, no to nije sa sigurnošću potvrđeno, tj. nije jasno jesu li epidemije među američkim Indijancima rezultat namjerne zaraze ili tek nesretne slučajnosti.

Virus boginja trenutno legalno posjeduje samo Centar za kontrolu i prevenciju bolesti u Atlanti, SAD-u, i Državni istraživački centar za virologiju i biotehnologiju u Novosibirsku, Rusiji. Posjedovanje virusa izvan ovih laboratorija ilegalno je po međunarodnoj konvenciji. Postoje sumnje da Irak, Iran, Sjeverna Koreja i Francuska imaju primjerke virusa, no to nije potvrđeno niti dokazano.

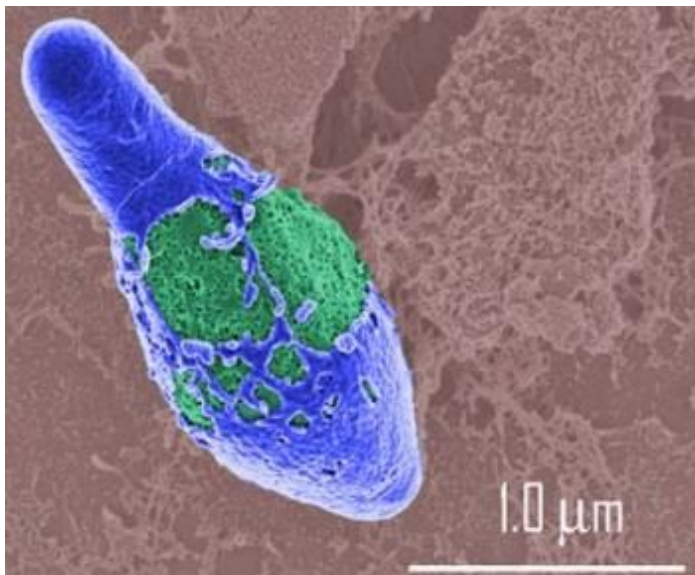
4.5. BOTULIZAM

Neurotoksini bakterije *Clostridium botulinum* spadaju među potencijalno najletalnije tvari na svijetu. Ova skupina srodnih proteina sastoji se od dva polipeptidna lanca, jednog teškog i jednog lakog, povezanih disulfidnim vezama. Genetička informacija za njihovu produkciju nalazi se na bakterijskom kromosomu, a sintetiziraju se u obliku jednog dugog polipeptidnog lanca koji se dorađuje poslije translacije.

Toksini djeluju na neuromišićne sinapse i glavna im je manifestacija opća slabost mišića i autonomnog sustava.

Potencijalna vrijednost ovih toksina za teroriste leži u potencijalno visokoj stopi smrtnosti, ali također i u velikim troškovima brige za oboljele pacijente, što bi u slučaju masovnijeg napada predstavljalo itekako velik problema za neku državu.

Clostridium botulinum uzrokuje većinu slučajeva botulizma, a toksini ove bakterije označeni su slovima A do G, i razlikuju se po antigenskim svojstvima. Toksini A, B, E i F uzrokuju bolest kod ljudi, C i D kod životinja dok je G oblik zasad nepovezan s prirodnim bolestima. Klinički oblici botulizma su dojenački botulizam, botulizam unešen hranom i botulizam unešen kroz ranu na tijelu. Tip A toksina koristi se u kozmetici kao sredstvo za izgladivanje bora.



Slika 10: *Clostridium botulinum* (<http://www.health-healths.com>)

Naziv botulizam dolazi od latinske riječi *botulus* što znači – kobasica, a taj naziv dolazi od slučajeva trovanja botulizmom zbog nedovoljno termički obrađenih suhomesnatih proizvoda. Justinus Kerner, njemački zdravstveni djelatnik, prvi je povezo pojavu bolesti s konzumacijom kobasica 1820. godine.

Van Ermengen je 1897. opisao *Clostridium botulinum* i demonstrirao da organizam ispušta toksin koji može uzrokovati slabost kod životinja.

Toksin botulinum razvijan je od strane Japana, SAD-a i SSSR-a, no najveći vojni program proizvodnje ovog toksina imao je Irak prije prvog Zaljevskog rata.

Japanski kult Aum Shinrikyo ispustio je toksin barem tri puta tijekom ranih 90-ih, pa iako su njihovi pokušaji srećom bili neuspješni, ilustriraju lakoću kojom su male grupe mogle doći do ovog agensa (Bleck, 2005).

Teroristički napad ovim toksinom mogao bi biti izveden kontaminiranjem zaliha vode i hrane, pa čak i raspršivanjem aerosolom.

Simptomi botulizma unešenog hranom obično se razviju 12–36 sati nakon ingestije. Prvo se javlja mučnina, suhoća usta i širenje zjenica. Slijedi slabljenje jezika, otežano gutanje i govor, a zatim se slabost širi u gornje ekstremitete, trup i noge. Oboljela osoba prestaje disati zbog slabosti mišića dijafragme, javljaju se teškoće u probavi i poremećaju srčanog ritma. Ako se oboljeloj osobi pomogne u disanju mehaničkom ventilacijom pluća i pruži ostala potrebna pomoć neće doći do smrti, ali oporavak može trajati i do 100 dana. U slučaju potencijalnog masovnog napada botulizmom bolnice bi bile preopterećene i vjerojatno se ne bi mogla pružiti adekvatna pomoć svim oboljelima .

5. GENETIČKI INŽENJERING I MOGUĆNOSTI ZLOUPOTREBE

Nagli razvoj biotehnologije, genetike i genomike otvorio je vrata napretka, ali i zloupotrebe u svrhu kreiranja savršenog biološkog oružja. Doveo je do povećanog rizika od ratovanja biološkim agensima i uporabe istih u terorističke svrhe. Znanje potrebno za takve pothvate postaje dostupno svim zainteresiranim sposobnima financirati istraživanja i programe.

Dobro poznate biološke agense s vremenom postaje sve lakše modificirati za specifične potrebe i učiniti ih efikasnijima od njihovih prirodnih oblika. Nije nestvarna ni mogućnost stvaranja potpuno novih organizama.

Upotrebom genetičkog inženjeringa znanstvenici su već u mogućnosti promijeniti svojstva patogena, počevši od jednostavnog uvođenja bakterijske rezistencije na antibiotike. Takvi pokusi provodili su se još u vrijeme Sovjetskog saveza, kada su u ondašnjim laboratorijima unošenjem stranih gena u bakteriju *Bacillus anthracis* promjenjena njena imunološka svojstva i uzrokovana neučinkovitost cjepiva.

Uzevši u obzir nagli razvoj molekularne biologije, može se za očekivati pokušaj rekreiranja nekih smrtonosnih virusa poput onog boginja ili ebola virusa. 2002. skupina američkih znanstvenika sintetizirala je funkcionalan poliovirus iz kratkih dijelova DNA koristeći znanje o njegovu genomu dostupno na internetu. Takav pothvat, naravno, zahtjeva stručnjake i dostatne financije, čega ipak ne manjka velikim silama.

Poznato je da američka vlada radi na razvoju bioloških organizama koji će pomoći u ratovanju svojom sposobnošću da razgrađuju materijale poput goriva ili stealth boja i na taj način omogućuju detektiranje neprijateljskih letjelica. Istražuju se i mogućnosti uporabe bioloških organizama u borbi protiv narko kartela, uništavanjem plantaža biljaka koje služe za proizvodnju opijata (Aken i Hammond, 2003).

Sve ove mogućnosti stvaraju potrebu za transparentnim i kontroliranim znanstvenim istraživanjima, te kontrolom objave podataka koji imaju potencijal biti iskorišteni u opasne svrhe. Potrebno je senzibilizirati znanstvenu zajednicu za opasnosti zlouporabe njihovih istraživanja.

6. ZAKLJUČAK

Upoznavši se s opasnosti koju za ljude predstavljaju mnogi prirodni organizmi i mogućnostima upotrebe istih kao sredstva napada na nevine civile ili vojnike na bojištu uviđamo važnost odgovorne uporabe i istraživanja ovih patogena. Mnoge zemlje potpisale su međunarodne konvencije kojima se obvezuju da neće istraživati ni razvijati biološko oružje, no poštivanje tih konvencija ostaje stvar savjesti ljudi koji se nalaze na odgovornim pozicijama. Svi postojeći patogeni u mogućnosti su da padnu u ruke terorističkih organizacija ili pojedinaca koji neće prezati da ih upotrijebe, što može dovesti do strašnih posljedica, a nove biotehnoške mogućnosti otvaraju vrata kreiranju novih opasnosti.

Odgovornost leži na znanstvenicima i službenicima na vlasti da kontroliraju svoja istraživanja i unaprijed razmotre potencijalne neželjene mogućnosti koje se pred njima otvaraju. Potrebno je također i educirati liječnike i stručnjake, ali i javnost, kako bi posljedice u slučaju bioterorističkih napada bile što lakše i žrtve manje.

7. LITERATURA

Alibek, K., Lobanova, C., Popov, S. (2005): Anthrax: A Disease and a Weapon. U: Bioterrorism and Infectious Agents: A New Dilemma for the 21st Century, Alibek, K . i Fong, I. W. (ur.) Springer Science+Business Media, Inc., New York, str. 1 – 35

Antosia, R. E.; Cahill, J. D. (2006): Handbook of Bioterrorism and Disaster Medicine, Springer Science+Business Media, Inc., New York

Aken, J. van; Hammond, E. (2003): Genetic engineering and biological weapons, European Molecular Biology Organization, EMBO reports (4) 57 - 60

Bleck, T. P. (2005): Botulism as a Potential Agent of Bioterrorism. U: Bioterrorism and Infectious Agents: A New Dilemma for the 21st Century, Alibek, K . i Fong, I. W. (ur.) Springer Science+Business Media, Inc., New York, str. 193 – 204

Dennis, D. T. (2005): Plague as a Biological Weapon. U: Bioterrorism and Infectious Agents: A New Dilemma for the 21st Century, Alibek, K . i Fong, I. W. (ur.) Springer Science+Business Media, Inc., New York, str. 37 – 70

Hodges, L., Penn, R. L. (2005): Tularemia and Bioterrorism. U: Bioterrorism and Infectious Agents: A New Dilemma for the 21st Century, Alibek, K . i Fong, I. W. (ur.) Springer Science+Business Media, Inc., New York, str. 71 – 98

Holloway, H. C., Norwood, A. E., Fullerton, C. S., Engel, C. C., Ursano, R. J. (1997): The Threat of Biological Weapons, JAMA (278), 425 - 427

Lane, J. M., Summer, L. (2005): Smallpox as a Weapon for Bioterrorism. U: Bioterrorism and Infectious Agents: A New Dilemma for the 21st Century, Alibek, K . i Fong, I. W. (ur.) Springer Science+Business Media, Inc., New York, str. 147 – 167

Kortepeter, M. G., Parker, G. W. (1999): Potential Biological Weapons Threats Emerging Infectious Diseases (5), 525 - 527

Phillips, M. B. (2005): Bioterrorism: A Brief History, Focus on Bioterrorism, 32 - 35

<http://emergency.cdc.gov>

www.DCMSonline.org

<http://www.dshs.state.tx.us/>

<http://www.hopkinsmedicine.org/heic/bioterrorism/>

<http://www.medicinenet.com/bioterrorism/>

<http://www.wikipedia.org>

8. SAŽETAK

Bioterrorizam je oblik terorizma kod kojeg dolazi do namjernog ispuštanja virusa, bakterija, toksina i drugih štetnih agensa s namjerom da se izazove bolest ili smrt kod ljudi, životinja ili biljaka. Biološke agense moguće je pronaći u prirodi, no oni također mogu biti promijenjeni ili dizajnirani kako bi im se povećala patogenost, mogućnost širenja kroz populaciju ili kako bi postali rezistentni na antibiotike i cjepiva.

Biološki agensi privlačni su teroristima zbog lakoće kojom ih se koristi, čuva i širi, te zato što lako uzrokuju paniku među stanovništvom, čak i ako nisu uspješni u napadu. Postoje različite kategorije agensa, neki su opasniji od drugih ili prikladniji za masovnu upotrebu, no ni jedan se ne smije potcijeniti. Potrebno je obratiti posebnu pozornost na područja genetičkog inženjeringa i genomike, te mogućnosti koje pružaju grupama i pojedincima koji ih žele upotrijebiti za zlo.

Bioterrorizam i biološko ratovanje nije nova ideja i ljudi su ih koristili kroz cijelu svoju povijest, no u današnjem vremenu pruža im se prilika za još veći razvoj i upotrebu.

9. SUMMARY

Bioterrorism is a form of terrorism in which deliberate release of viruses, bacteria, toxins or other harmful agents used to cause illness or death in people, animals, or plants occurs. These biological agents are usually found in nature, but they can be altered and engineered in order to increase their ability to cause disease, spread fast and easy throughout the population or to make them resistant to known medications.

Biological agents are attractive to terrorist because of their ease of use, storage and dissemination, and they also cause panic amongst people even if the actual attack is not very successful. There are different types of agents; some are more fatal than others, or better suited for mass attacks, but none should be underestimated.

Special attention should be directed towards genetic engineering and genomics, and possibilities that modern science gives to people who do not have best intentions.

Bioterrorism and biological warfare is not a new idea, and it has been used throughout human history, but in these modern times it gains potential for development.