

fot. iStock

Identyfikacja czynnika biologicznego

W przypadku ataku bioterrorystycznego podstawą jest wykrycie takiego zdarzenia oraz szybka i precyzyjna identyfikacja patogenu chorobotwórczego. Bakterie, wirusy czy toksyny nie posiadają smaku, zapachu oraz barwy. Nie można ich również dostrzec za pomocą wzroku. Artykuł ma na celu przypomnienie i usystematyzowanie wiedzy z zakresu technik i metod identyfikacji bojowych środków biologicznych.

ml. asp. mgr Kamil Biały^{1,2}
st. kpt. mgr inż. Artur Wydra¹
kpt. mgr inż. Piotr Gonera¹

¹CS PSP w Częstochowie

²Ośrodek Szkolenia WPR w Katowicach

Użycie broni biologicznej najczęściej nie powoduje natychmiastowych objawów klinicznych. Występuje tzw. okres utajenia wynoszący od kilku godzin (niektóre toksyny) do kilkunastu, a nawet kilkudziesięciu dni (wirusy, bakterie). Bardzo często zdarzenie będzie przyjmowało charakter ataku skrytego, czyli sprawcy nie poinformują o użyciu bojowych środków biologicznych. W fazie prodromalnej objawy są bardzo podobne do tych grypopodobnych, co również utrudnia identyfikację patogenu. Takie aspekty powodują późne wdrożenie procedur oraz rozwój epidemii. Atak bioterrorystyczny może zostać wykonany poprzez rozpylenie czynnika biologicznego w powietrzu, skażenie żywności i ujęć wody pitnej, wykorzystanie wektorów (np. pchły) czy zrealizowany przez wysłanie przesyłki z patogenami chorobotwórczymi (listy z wąglikiem w USA, 2001 r.).

Metody identyfikacji bojowych środków biologicznych

W ramach służb ratowniczych wykorzystuje się poniższe metody:

Badanie pH

W pierwszej kolejności próbkę niezidentyfikowanego materiału można poddać badaniu z wykorzystaniem papierka wskaźnikowego pH. Neu- ▶

Atak bioterrorystyczny może zostać wykonany poprzez rozpylenie czynnika biologicznego w powietrzu, skażenie żywności i ujęć wody pitnej, wykorzystanie wektorów (np. pchły) czy zrealizowany przez wysłanie przesyłki z patogenami chorobotwórczymi (listy z węglikiem w USA, 2001 r.).

- ▶ tralne pH może świadczyć o wysokim prawdopodobieństwie materiału biologicznego. Kwasowe bądź zasadowe pH raczej wyklucza obecność patogenów chorobotwórczych. Wynika to z tego, iż drobnoustroje są bardzo wrażliwe na zmiany fizykochemiczne, a optymalnym i bezpiecznym środowiskiem jest pH neutralne.

Testy Biocheck

Pozwalają one na określenie, czy w materiale występują proteiny (białka). Próbkę jest pobierana na wacik, który następnie zanurza się w roztworze. Zmiana koloru świadczy o obecności czynnika biologicznego. Zestaw zawiera również roztwór kontrolny oraz posiada możliwość oceny pH.



Fot. 1. Test na obecność protein

Luminometry wykorzystują zjawisko bioluminiscencji, której podstawą jest reakcja utleniania lucyferyny przez lucyferazę. Luminometry dokonują pomiaru zawartości ATP w żywych komórkach. ATP zostaje poddane enzymatycznemu rozkładowi, który przebiega z wydzieleniem światła. Fotodetektor określa dokładną ilość powstałego światła. Wielkość emisji światła wyrażona jest jako RLU (*Relative Light Unit*). Są w stanie ilościowo wykryć bakterie.

Testy immunochromatograficzne

Są to testy jakościowe pozwalające wykryć antygeny patogenów chorobotwórczych w różnych układach. Cechuje je: szybkość wykonania wyniku, prosta obsługa, brak potrzeby specjalistycznego sprzętu oraz niskie koszty użytkowania. Nie wymagają sterylnego środowiska i kontrolowanej temperatury. Do badania wystarczy niewielka ilość materiału klinicznego. W porównaniu z innymi metodami diagnostycznymi, szybkie testy charakteryzuje bardzo wysoka czułość i swoistość. Test zbudowany jest z plastikowej kasetki, która posiada okienko na badany materiał oraz okienko wynikowe. W kasetce znajduje się błona nitrocelulozowa, po której przemieszcza się badany materiał, wykorzystując zjawiska kapilarne oraz dwa rodzaje specyficznych przeciwciał. Są one skierowane przeciwko poszukiwanemu antygenowi. Jedno migrujące jest znakowane koloidalnym złotem, drugie jest unieruchomione na błonie w okienku wynikowym. Jeżeli w badanym materiale klinicznym występuje poszukiwany antygen, to zostaje on związany przez specyficzne przeciwciała, które tworzą kompleks w postaci barwnej linii w okienku wynikowym. Widoczny barwny pasek linii kontrolnej świadczy o poprawnym wykonaniu testu.

Inne technologie wykorzystywane przez służby do identyfikacji czynnika biologicznego

System LRBSDS (*Long Range Biological Standoff Detection System*)

Składa się z lasera na podczerwień, teleskopu odbiorczego oraz detektora. Jest w stanie wykryć chmurę aerozolu z odległości ok. 30 km.

System JBSDS (*The Joint Biological Standoff Detection System*)

To udoskonalony system LRBSDS. Jest w stanie rozróżnić chmurę aerozolu biologicznego od niebiologicznego. Jest w pełni zautomatyzowany z możliwością monitorowania obłoku.

System IBADS (*The Interim Biological Agent Detection System*)

Składa się z koncentratora aerozolu oraz aerodynamicznego miernika cząstek. Ma możliwość podłączenia testów immunochromatograficznych w celu dokładnej identyfikacji patogenów. Jest półautomatyczny.

System FLAPS (*Fluorescence Aerodynamic Particle Sizer*)

System wykorzystuje wzbudzoną fluorescencję wiązkami lasera, która jest wykrywana i analizowana za pomocą fotodetektorów. Analizuje rodzaj aerozolu, jego kształt i koncentrację. Przykładami takich urządzeń są: system LIDAR, detektor skażeń biologicznych BIODES (efekt wspólnych prac Instytutu Optoelektroniki WAT i Pimco Sp. z o.o.) oraz IBAC-2.

System 4WARN

Składa się z fluorescencyjnego rozdzielacza cząstek z detektorem immunochemicznym. Pozwala na jednoczesną identyfikację jedenastu patogenów przy bardzo wysokiej czułości. Może prowadzić pomiary automatycznie i być sterowany zdalnie. Dodatkowo wyposażony jest w stację meteo oraz moduł GPS.

Biosensory

Opracowuje się je na bazie światłowodów pokrytych przeciwciałami. Ulegają one selektywnym reakcjom z przeciwciałami, w wyniku których powstaje kompleks identyfikowany, następnie z innym przeciwciałem oznakowanym barwnikiem fluorescencyjnym. W wyniku naświetlania światłem lasera barwnik zostaje silnie wzbudzony, dając sygnał detektorowi. Pozwala to na identyfikację bakterii, toksyn, wirusów oraz grzybów. W jednym czasie mogą być analizowane aż 4 próbki. Przykładem jest urzą-



Fot. 2. Luminometr

fol. z archiwum autora



Fot. 3. Test immunochromatograficzny

dzenie Analyte 2000 i urządzenie Raptor, które mogą pracować automatycznie i być sterowane zdalnie. Istnieje możliwość wykorzystania ich jako system w dronach.

System BAWs (*Biological Agent Warning Sensor*)

Składa się z fotonicznego czujnika fluorescencyjnego. Za pomocą lasera i trzech fotopowielaczy rejestrowane są powstające fotony. Promieniowanie laserowe może także zidentyfikować tryptofan. Specjalne algorytmy porównują dane, a znaczące zmiany świadczą o obecności chmury aerozolu.

Spektrometria masowa pojedynczych cząstek

Próbka powietrza poddawana jest odpowiedniemu procesowi w celu uwolnienia białek. Produkty trafiają do chromatografu, gdzie są rozdzielane, a następnie umieszczane w spektrometrze. ▶



- Identyfikacja prowadzona jest na podstawie widm pojedynczych molekuł. Przykładem urządzenia wykorzystującym powyższą technologię jest urządzenie Bioprofiler.

Powierzchniowo wzmocniona spektroskopia ramanowska

Wykonywane są pomiary lasera odbite od badanej próbki. Następnie porównuje się powstałe widma z widmami wzorcowymi znajdującymi się w bibliotece urządzenia.

Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR)

Polega ona na powieleniu wybranego fragmentu DNA *in vitro* do wymaganego poziomu detekcji. Opracowano także wykrywanie RNA przy wykorzystaniu metody RT-PCR. Brak możliwości wykrycia toksyn, ponieważ nie zawierają materiału genetycznego. Przykładem są urządzenia BioSeq Plus oraz T-COR 8. Połączenie metody PCR z biosensorem zostało wykorzystane w urządzeniu Rapid.

Techniki laboratoryjne

Warto również wspomnieć o metodach wykonywanych w specjalistycznych laboratoriach. Należy pamiętać, że podstawowe metody szybkiej identyfikacji materiału biologicznego trzeba potwierdzić w odpowiednim laboratorium, aby wykluczyć ryzyko fałszywie dodatniego testu.

Identyfikacja zakażeń bakteryjnych:

- badanie mikroskopowe,
- hodowla i identyfikacja drobnoustrojów na podstawie cech biochemicznych,
- metody serologiczne (wykrycie antygenów przeciwciał, kompleksów immunologicznych),
- metody molekularne (PCR, qPCR, RT-PCR, sekwencjonowanie DNA, hybrydyzacja, PFGE).

Identyfikacja zakażeń wirusowych:

- hodowle komórkowe,
- mikroskopia elektronowa,
- metody serologiczne,
- metody molekularne.

Podsumowanie

Znajomość oraz dobór odpowiedniej metody identyfikacji pozwala na określenie, czy mamy zagrożenie ze strony niebezpiecznego czynnika biologicznego, co pozwala na wdrożenie efektywnych działań ratowniczych dotyczących doboru adekwatnych środków ochrony indywidualnej, technik dekontaminacji, izolacji (kwarantanny) i reżimu sanitarnego osób poszkodowanych, specjalistycznego transportu (komory izolacyjno-transportowe) oraz odpowiedniego leczenia (antybiotykoterapia, antytoksyny, leki przeciw-wirusowe, szczepienia ochronne).

Współpraca służb ratowniczych z Państwową Inspekcją Sanitarną, placówkami ochrony zdrowia oraz panelem eksperckim jest kluczem do prawidłowego zarządzania zdarzeniem z potencjalnym użyciem patogenów chorobotwórczych. □

Piśmiennictwo

1. Drzewiński Ł.: *Broń biologiczna*, Wydawnictwo Sowa, wyd. 1, Warszawa 2013.
2. Harmata W.: *Ochrona przed skażeniami. Cz. V. Wybrane zagadnienia organizacyjne i techniczne rozpoznania skażeń*, WAT, Warszawa 2020.
3. Hawley C.: *Hazardous materials monitoring and detection devices*, Jones&Bartlett Learning, wyd. 3, 2020.
4. <http://biocheckinfo.com/test-kit/>
5. <https://raytech.pl/>