

007.52.004.14:543.061:623.458.9:355.535.1/2

VYUŽITÍ AUTOMATŮ K DETEKCI BOJOVÝCH BIOLOGICKÝCH PROSTŘEDKŮ A K VAROVÁNÍ VOJSK PŘED BIOLOGICKÝM NAPADENÍM

Pplk. MUDr. Květoslav LIPÁR, CSc.
MNO 61, Praha

Bojové biologické prostředky (BBP), přestože byly uzavřeny mezinárodní dohody o zákazu jejich použití, nebyly zcela eliminovány ze seznamu zbraní hromadného ničení a neustále trvá nebezpečí jejich použití pro dosažení plánovaných cílů imperialistických agresorů. Svědčí o tom i realizace programu technického vývoje detekčního a varovného systému na přítomnost bojových biologických prostředků v ovzduší, který na základě požadavku pozemního vojska USA byl zahájen v roce 1975. Realizátorem programu je závod Environmental and Process Instruments Division firmy Bendix Corporation. Biologický detekční a varovný systém (BDWS — Biological Detector and Warning System) má být zaveden do používání u jednotek pozemního vojska v roce 1984.

K hlavním druhům zbraní hromadného ničení patří jaderné (štěpné a neutronové) zbraně a bojové chemické látky. BBP se předpokládá použít zpravidla v hloubce obrany nepřítel. Výhodou jejich použití je, že jeden letoun vybavený aerosolovým generátorem může zamořit mnohasetkilometrový prostor virulentním mikrobiálním kmenem, a tak vytvořit podmínky ke vzniku rozsáhlých epidemií u vojsk a obyvatelstva v exponovaném prostoru. Rozsah zamořeného prostoru je závislý na použitém prostředku (mikrobiální suspenze, infikovaní přenašeči), způsobu jeho rozptýlení a na převládajících meteorologických podmínkách. Nepředpokládá se, že BBP budou používány na maloplošné cíle — souvisí to s problémem přesného navedení nosiče na cíl. Přesto však mají BBP velký strategický význam, protože jejich výroba a provedení vlastního biologického napadení rozsáhlého prostoru si nevyžaduje velkých nákladů a výsledný efekt jejich použití — vysoké celkové a zejména zdravotnické ztráty po provedení jednom jediném napadení, je z hlediska operačně taktického velmi významný.

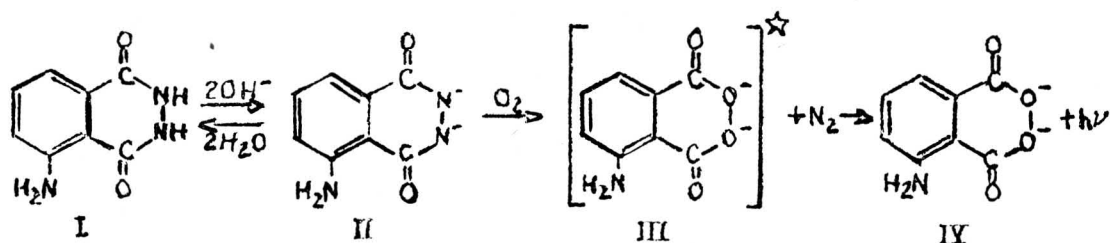
BBP jsou konstruovány tak, aby umožnily roz-

prašení patogenních organismů — bakterií, rickettsií a virů. Kromě nich obsahuje náplň munice rovněž nečistoty vzniklé při zpracování BBP a stabilizační médium, které je nezbytné k udržení vysoké virulence patogenních organismů po dobu skladování. Obecně lze říci, že všechny potenciální BBP obsahují sloučeniny porfyrinu, jako je hematin a cytochrom.¹⁾

Jsou součástí metabolismu bakterií a rickettsií. I když nejsou přítomny ve virech, jsou obsaženy v reziduálním buněčném materiálu pocházejícím z kultivace virů, který se stává součástí náplně munice BBP. Vyvíjený detekční systém BDWS citlivě reaguje na atmosférické aerosoly obsahující porfyrinové sloučeniny a je konstruován tak, aby při zjištění BBP automaticky spustil varovný signál upozorňující na nebezpečí BBP v ovzduší.

Bílkovinné materiály obsahující porfyriny lze běžně zjišťovat v okolní atmosféře. Tyto přirozené aerosoly jsou obvykle složeny ze spor, pylů a dalších látek, které jsou produktem životních cyklů různých rostlin, ale často obsahují široké spektrum látek dostávajících se do ovzduší z povrchních vrstev půd. Tyto aerosoly obsahují i produkty průmyslových technologických procesů, produkty obilnářského průmyslu, podniků na výrobu umělých hnojiv a produkty zemědělské výroby. Dočasná koncentrace přírodních aerosolů se liší od koncentrace BBP v aerosolech vytvářených zbraňovými systémy. Proto při detekci biologických prostředků se hodnotí kromě koncentrace porfyrinu v aerosolu i dynamika výskytu.

Detekční princip použitý v BDWS je založen na chemické luminiscenci (tj. světélkování působením chemické energie), k níž dochází při oxidaci luminolu (5-amino-2,3-dihydro-1,4-ftalazindion) v alkalickém roztoku. Oxidace luminolu v nekyselém roztoku, jak ji popsal White, je znázorněna touto rovnicí:

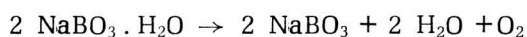


¹⁾ Porfyriny jsou pigmenty široce rozšířené v přírodě (krevní, žlučové pigmenty, cytochromy) sestávající ze čtyř pyrrolových jader spojených do kruhové (porfin) struktury. Jsou produkty substituce porfinů a vytvářejí několik druhů různých se většinou v postranním řetěz-

ci (metyl, etyl, vinyl, formyl, karboxymetyl apod.) umístěném v osmé pozici pyrrolového kruhu. Protoporfyrin typu III se vyskytuje v hemu, z ostatních pouze koproporfyrin a uroporfyrin se vyskytují také v přírodě jako typ III. Protoporfyriny se váží s různými kovy do metaloporfyrinu a dusíkatých sloučenin.

Jednomocný anion luminolu nereaguje s kyslíkem dostatečně rychle; proto se musí přidat dvě grammolekuly zásadité látky, aby vznikl dvojmocný anion (II), který je důležitým meziproduktem při reakci. Jelikož mezi luminolem (I) a jeho dvojmocným anionem existuje rovnováha, je chemoluminiscence závislá na pH reakčního roztoku. Dvojmocný anion reaguje s rozpuštěným kyslíkem přes několik mezistupňů, aby se vytvořil aktivovaný singlet (chemická vazba s jediným společným elektronem) ionu aminofthalátu (III) s uvolněním dusíku. Za emise fotonů se singlet rychle rozkládá do základního stavu (IV). Podrobnosti oxidačního procesu nejsou přesně poznány, lze však předpokládat, že se uvolňují volné radikály.

Okysličování při reakci se uskutečňuje pomocí roztoku peroxidu s katalyzátorem. Jako okysličovadla se v BDWS používá monohydrátu perboritanu sodného ($\text{NaBO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Porfyriny stejně jako jiné přechodné kovové komplexy katalyzují rozklad perboritanu za vzniku kyslíku a vody.



I když jsou všechny reagující látky v nadměrném množství, celkové vyzařování světla při oxidaci luminolu je přímo úměrné koncentraci katalyzátoru nebo látky obsahující porfyrin.

Při reakci luminolu se vytváří relativně široké spektrum světla v rozmezí od 3500 do 6000 Å. S použitím fotonásobiče jako fotodetektoru lze zjistit Fe porfyrin (hematin) v koncentraci $10^{-4} \mu\text{g/ml}$. Když se tato hodnota převede na ekvivalentní počet buněk bakterií, je minimální citlivost 10^4 až 10^5 buněk v mililitru v závislosti na druhu organismu. I když budou v té-

to reakci působit jako katalyzátory i jiné látky než porfyriny, bylo prokázáno, že rychlost světelné emise je značně menší u porfyrinů než u kovových iontů nebo komplexů nebiologického původu. Proto lze k zajištění specifity detekce použít kinetických reakcí.

Popis systému

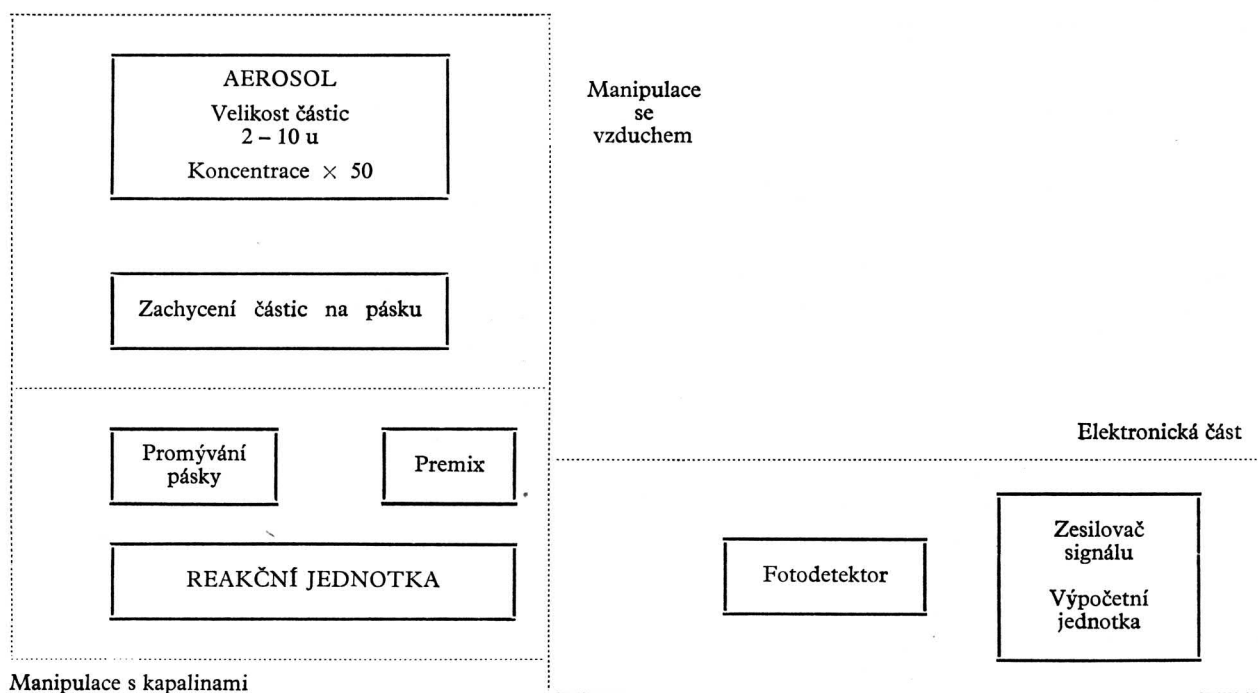
Systém BDWS má tyto dvě hlavní části:

- průkazník a signalizátor XM 19 Alarm a
- vzorkovač XM 2 Sampler.

Zařízení XM 2 Sampler plní funkci sběrače detektoru za kontinuálního sledování okolního vzduchu a automaticky spouští výstražný signál v případě zjištění BBP.

Zařízení XM 2 Sampler plní funkci sběrače vzorků z podezřelého biologického aerosolu na základě signálu vydaného zařízením XM 19 Alarm.

Podsystém kontroly zamoření vzduchu (Air Handling Subsystem) pracuje s kapacitou 1000 l/min. Vzduch vstupuje do přístroje kruhovým prstencem s filtrem, jenž zabraňuje pronikání velkých předmětů, jako je hmyz, a dopadá na zařízení označované jako sběrač — zhušťovač (collector — concentrator). Dopad vzduchu probíhá ve dvou fázích. První fáze využívá 18 kruhových trysek uspořádaných do dvou soustředných kruhů. Každá tryska má průměr 2,5 mikrometrů s 50% seškracením (d_{50}) při specifické hmotnosti 1,0. Tyto větší aerosolové částice jsou zhuštěny na 15 % objemu odebíraného vzduchu a jsou vedeny jedinou obdélníkovou štěrbinou, která má stejné charakteristiky zaškracení jako první fáze. V této druhé fázi dopadu aerosolu do přístroje dochází k dalšímu zahuštění částic na 10 % přiváděného vzduchu. Při použití této dvoustupňové separa-



Obr. 1. Blokové schéma průkazníku a signalizátoru XM 19

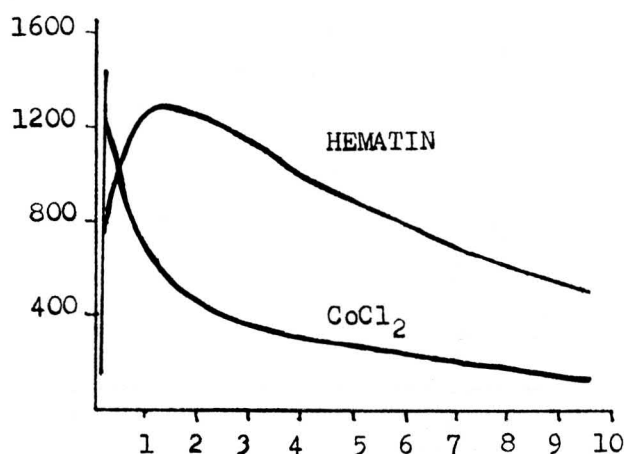
ce částice s průměrem větším než $2,5\ \mu\text{m}$ se z původních 1000 l/min zahustí do 15 l/min. Měření prokázala, že přes 70 % odebíraných částic o velikosti od 3 do $8\ \mu\text{m}$ se dostane do výstupu z koncentrátoru. Tento obohacený aerosol se používá k detekci a zbývající odebíraný vzduch se používá k chlazení a pak se odsává z přístroje. Vzorek obohaceného vzduchu je obdélníkovou šterbinou veden na povrch nepřetržitě se pohybující pásy pokryté přilnavou látkou. Tato sběrná páska byla vyvinuta speciálně pro tento účel v Southern Research Institute.

Materiál, který dopadl na pásku, je pomocí ní dopraven do vedlejšího zařízení, které tvoří mezičlánek mezi podsystémem pro kontrolu zamoření vzduchu a podsystémem pro kontrolu zamoření kapaliny. Tento mezičlánek, označovaný jako mycí stanice, umožňuje přímý kontakt omývací tekutiny (sterilní vody) s částicemi uchycenými na pásce. Promývání pásy sterilní vodou vede k oddělování jednotlivých buněk a jejich uvolnění do vody. Adheze částic je značná a z pásy se oddělují při promývání obtížně. To však způsobuje diferenciaci mezi biologickými a nebiologickými látkami, k níž dochází tím, že biologické částice se snadněji vymývají z pásy než např. prachové částice. Promývací tekutina se pomocí vstřikovacího čerpadla přečerpává z mycí stanice do reakční komory. Čerpadlo je konstruováno tak, že umožňuje každých 10 sekund vstřikovat stejná množství mycí vody a předem připraveného reagenčního roztoku do reakční komory. Předem připravený reagenční roztok — premix — je alkalický roztok luminolu, perboritanu sodného a kyseliny etylendiamintetraoctové (EDTA). Složení premixu bylo optimalizováno tak, aby umožnilo zvýraznit rozdíly v rychlosti reakce porfyrinů a jiných kovových komplexů a iontů. Reakční komoru tvoří dvojité spirála průsvitných trubek upevněných na termostatu udržujícím reakční teplotu 25°C . Komora je těsně spojena s tubusem fotonásobiče (EMI Type 9524B).

Fotonásobič převádí světelnou emisi z reakční komory na napěťový impuls, který ho zpracovává v elektrickém podsystému. Veškeré zpracování signálu provádí mikropočítač používající jako centrální procesorové jednotky 8080 A. Signál z fotonásobiče se během prvních 8 sekund každého cyklu vstřikování převádí na číslíkovou formu v 0,1 sekundových intervalech. Výsledných 80 informačních bodů popisuje reakci, resp. světelnou emisi, a grafy reakční rychlosti později zjednoduší na dvě zobrazované charakteristické veličiny označené „A“ a „B“. „A“ představuje aritmetický průměr informačních bodů 2 až 5, „B“ je průměrem bodů 6 až 80. Hodnoty „A“ a „B“ vypočítá mikropočítač během posledních dvou sekund vstřikovacího cyklu. Z obou charakteristických veličin je odečítáním průměrných signálů tvořících síť hodnot pozadí označovaných ΔA a ΔB vyloučen tzv. základní šum aerosolu. Tato kontrolní hladina je aproximována exponenciálním prů-

měrem parametrů, které jsou počítačem používány v prvních 10 minutách (60 vstřikovacích cyklů). Když jednotka nevyhlásí poplach, jsou tyto průměry aktualizovány ke konci každého dalšího vstřikovacího cyklu, aby mohly být použity v početních úkonech následujících cyklů.

Obrázek 2 schematicky znázorňuje dvě grafické charakteristiky průkazníku XM 19 Alarm, z nichž lze vyčíst rozdíly v kinetice vyzařování světla u porfyrinových sloučenin a kovových iontů. Veličiny „A“ a „B“ působí jako váhové faktory, přičemž „A“ představuje příspěvek nebiologických a „B“ příspěvek biologických látek v reakci. Poměr $\Delta B : \Delta A$ tudíž ukazuje, zda materiál je nebo není biologické povahy. Na obrázku 2 je poměr $\Delta B : \Delta A$ 0,4 pro iontovou a 1,1 pro biologickou reakci. Veličiny ΔA a ΔB jsou pomocí logického algoritmu v rámci programu mikropočítače vyhodnoceny za účelem stanovení poplachového stavu jednotky na konci vstřikovacího cyklu. Poplachový stav nastane, je-li ΔB větší než stálá prahová hodnota a větší než 90 % z ΔA . Poplach je vyhlášen po šesti po sobě následujících stavech, jestliže se hodnoty ΔB zvyšují.



Obr. 2. Poměry reakčních profilů hematinu a chloridu kobaltného stanovené průkazníkem XM 19

Přístroj XM 19 je napájen ze zdroje elektrické energie o napětí 120 V, 60 Hz. Jeho činnost je řízena mikropočítačem. Kromě ohlášení poplachového signálu při zjištění biologického aerosolu vykonává funkci vlastní kontroly, aby byl zabezpečen správný tlak vzduchu, průtok kapaliny a optimální teplota. Zjištění jakékoliv poruchy je signalizováno a upozorní obsluhu na potřebu zásahu.

Příprava průkazníku XM 19 k použití zahrnuje výměnu dvou kontejnerů s reagenční látkou (jeden obsahuje premix a druhý sterilní vodu) a výměnu sběrné pásy. Páska je uložena v pouzdře kazetového typu. Průkazník může pracovat bez obsluhy až po dobu 24 hodin. Součástí průkazníku je souprava obsahující zásoby spotřebovávaného materiálu.

Limitujícím požadavkem pro konstrukci přístroje byla minimální příprava k zahájení pro-

vozu a co nejmenší požadavek zručností obsluhy přístroje. Proto byla přijata koncepce, podle níž servisní zásobovací souprava obsahuje prostředky jednorázové spotřeby na 7 dní činnosti přístroje. Voda potřebná k promývání pásky je v zapečetěných kontejnerech sterilizovaných výrobcem gama zářením. Reagenční roztok je kvůli snadnému rozpoznání v kontejneru žluté barvy. Při přípravě premixu k použití přidá do kontejneru obsluha tabletu perboritanu sodného.

Pro kontrolu funkce přístroje je v servisní zásobovací soupravě uložen malý rozprašovač obsahující chlorid kobaltnatý, který umožňuje vytvořit testovací oblak aerosolu. Přepnutím na speciální testační algoritmus mikropočítač interpretuje iontovou reakci vyvolanou kobaltem a uvede do činnosti poplachový signál.

Zkoušky prototypu průkazníku ověřily jeho schopnosti detekovat bakterie, rickettsie a viry. Výkon je v souladu s požadavky pozemního vojska.

Druhou základní částí systému BDWS je zařízení na odběr vzorků Sampler XM 2. Je uváděn do činnosti průkazníkem XM 19, automaticky odebírá vzorky ovzduší, shromažďuje aerosolové částice a udržuje vzorek v prostředí umožňujícím udržet životní funkce organismů. Skládá se ze tří funkčních podsystémů. Podsystém pro kontrolu zamoření vzduchu vykonává (podobně jako u průkazníku XM 19) odběr vzorků vzduchu a zahušťování aerosolu pomocí stejného sběrače — zahušťovače.

Obohacený aerosol je z koncentrátoru veden do jednoho ze dvou kontejnerů na vzorky. Tyto jsou součástí druhého podsystému pro odběr vzorků a je nazýván mokrým kolektorem. Mokré kolektory jsou také uloženy v servisní zásobovací soupravě a jsou vyrobeny z látky LE-XANTM a obsahují 40 ml fyziologického roztoku s fosfátovým pufrům (pH 7,2) a 0,5% TWEEN 80TM.

Dva otvory na vzorky jsou zaplombované plastickými membránami a dohotovená zaříze-

ní se sterilizují zářením gama. Po aktivaci vzorkovače XM 2 dochází k proražení plomb jednoho kolektoru a pak probíhá po dobu 45 minut nasávání vzduchu. V případě, že průkazník XM 19 ještě stále signalizuje poplach, přepne se XM 2 automaticky na druhý kolektor a pokračuje v odběru vzorků dalších 45 minut. Kolektory jsou uloženy v komoře s teplotou mezi 5 až 10 °C. Kolektory lze snadno vyjmout a uzavřít víčkem se závitem, aby je bylo možné přeppravovat. Třetím podsystémem je elektronický podsystém, který řídí činnost zařízení XM 2. Tlak vzduchu a okolní teplota se během vzorkování sledují za účelem zabezpečení správného chodu. Na ovládacím panelu jsou umístěny indikátory poruch. Nároky na energii jsou stejné jako u průkazníku XM 19. Vzorkovač XM 2 lze uvést do chodu buď ručně z ovládacího panelu, nebo automaticky ze vzorkovače XM 19. Výkon zařízení je v souladu s požadavky pozemního vojska.

Souhrn

Biologický detekční a varovný systém má být zaveden do používání v americké armádě v roce 1984. Cílem je včasné zjištění BBP a zabezpečení včasné výstrahy proti biologickému napadení. Kromě vojenského použití lze tento systém použít při odběru vzorků znečištěné atmosféry. Všechny provozní údaje jsou zaznamenávány na magnetickou pásku a to umožňuje vytvořit banku grafických charakteristik reakční rychlosti různých aerosolů.

Literatura

Berry, P. - Keane, W. - Hatfield, G. - Filler, M.: The biological detector and warning system, XM 19/XM 2. Závěry z výzkumné zprávy. Chemical systems Laboratory, USARRADCOM.

Klíčová slova: Bojové biologické prostředky; Využití automatů k detekci.