

616.981.511-084:323.28

SOUČASNÝ STAV PROFYLAXE PROTI ANTRAXU

Miroslav ŠPLÍNO, Jiří PATOČKA

Katedra epidemiologie Vojenské lékařské akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové

Katedra toxikologie Vojenské lékařské akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové

Souhrn

*Souhrnný článek prezentuje základní poznatky týkající se *Bacillus anthracis* a jeho možné teroristické zneužití. Uvádí základní klinické formy s důrazem na inhalační nákazu sporami *B. anthracis*. Je popsána charakteristika vakcíny AVA licencované v USA, primární vakcinace, protektivní účinnost vakcíny a nežádoucí reakce. Důraz je položen na preexpoziční a postexpoziční profylaxi antraxu.*

Klíčová slova: Antrax; Inhalační antrax; Bioterrorismus; Spory tvořící bakterie *Bacillus anthracis*; Vakcinace; Chemoprophylaxe; Postexpoziční profylaxe.

The Present State of Prophylaxis against Anthrax

Summary

*This paper presents fundamental knowledge concerning *Bacillus anthracis* and its potential misuse by terrorists. The basic clinical forms are resumed with emphasis on inhalation infection from *B. anthracis* spore inhalation. The AVA vaccine licenced in the United States, primary vaccination, the protective efficacy of the vaccine, and adverse events are characterised. Stress is laid on the pre-exposure and post-exposure prophylaxis of anthrax.*

Key words: Anthrax; Inhalation anthrax; Bioterrorism; Spore-forming bacterium *Bacillus anthracis*; Vaccination; Chemoprophylaxis; Post-exposure prophylaxis.

Úvod

Problematika bioterrorismu a možnosti zneužití biologických agens (B-agens), především antraxu, jsou v současné době stále aktuální. V systému preexpoziční a postexpoziční profylaxe proti antraxu hraje důležitou roli vakcinace a chemoprophylaxe.

Charakteristika antraxu

Antrax je primární zoonózou. Onemocnění vyvolávají spory *Bacillus anthracis*. Postihuje domácí i volně žijící zvířata (ovce, kozy, hovězí dobytek, antilopy a jiné přežvýkavce). Epidemie antraxu v přírodě se obvykle objevují po období dešťů, po kterém následuje chladné počasí. K nákaze zvířat dochází cestou zažívacího traktu – spásáním kontaminované trávy nebo požitím kadaverózních zbytků nakažených zvířat. Lidé se mohou nakazit třemi způsoby v závislosti na expozici: infekcí kůže, požitím infikovaného masa a inhalací spor antraxu – dochází k přímé expozici *B. anthracis*.

Kožní forma se rozvíjí po kontaktu kůže s infikovaným masem, vlnou nebo kůží infikovaných zvířat. Ve více než 95 % se antrax manifestuje jako kožní forma. Inkubační doba je 1–12 dní. Kožní forma začíná rozvojem drobných papul, které se během 1–2 dní mění ve vezikuly s následnou ulcerací. Léze jsou obvykle nebolestivé, pacienti mohou mít teplotu, bolesti hlavy a regionální zvětšení lymfatických uzlin. U neléčených případů umírá přibližně 20 % nemocných, ale zřídka dojde k úmrtí při odpovídající antibiotické léčbě.

Gastrointestinální forma antraxu: inkubační doba je 1–7 dní. Onemocnění se manifestuje za příznaků: bolesti břicha s vysokou teplotou a pozvolna se rozvíjející septikémií. Charakteristické jsou zánětlivé změny zažívacího traktu, bolesti v krku, horečka a zvracení krve. Smrtí končí 25–60 % případů.

Inhalační antrax je letální formou onemocnění. Inkubační doba závisí na množství inhalovaných spor – od 1 do 7 až 60 dní. Po inhalaci aerosolu spor,

většinou při průmyslovém zpracování kontaminované vlny nebo srsti, dochází k rozvoji plicního antraxu. Počáteční symptomy mohou připomínat nespecifické poškození horních cest dýchacích: bolesti v krku s teplotou a bolesti svalů. V průběhu několika dnů se manifestují symptomy dechové insuficience a dochází k rozvoji šoku. Přímý přenos plicního antraxu z člověka na člověka nebyl prokázán.

Na začátku 50. let byl prováděn ofenzivní výzkum *B. anthracis* a příprava možného použití spor antraxu jako biologické zbraně pro jeho specifické biologické vlastnosti:

- *schopnost šíření spor vzdušnou cestou – aerosolem,*
- *vysoká specifická smrtelnost,*
- *relativně jednoduchá příprava biologického agens a plošná distribuce,*
- *možnost dlouhodobého skladování při zachování plné virulence spor (1).*

Antrax a terorismus

Možnost teroristického zneužití spor antraxu předpokládá úmyslné primární nebo sekundární vytvoření aerosolu spor *B. anthracis*. K sekundární tvorbě aerosolu dochází při víření sedimentovaných spor, např. kontaminovaným prachem, činností lidí, manipulací se zvířaty aj. Inhalační dávka spor není u člověka přesně definována. Kvalifikovaný odhad vyplývá z experimentu na primátech. *Předpokládá se, že infekční dávka spor u člověka je v rozsahu 8000 – 50 000 spor (2).* Aerosolové částičky větší než 5 mikronů rychle sedimentují a vytvářejí možnost tvorby sekundárního aerosolu. Menší aerosolové částičky (v průměru 1–5 mikronů) se v zevním prostředí chovají jako plyn a dlouhodobě perzistují v prostředí bez sedimentace. Inkubační doba u inhalační formy se udává od 1 do 43 dní (3).

V roce 1979 vypukla epidemie plicního antraxu v bývalém Sovětském svazu. Bylo zaznamenáno, že k rozvoji prvních klinických příznaků došlo až 43. den po expozici. Doba expozice byla určena jen přibližně a nebyla nikdy přesně potvrzena. Průměrná inkubační doba v této epidemii byla stanovena na 9–10 dní (4).

Inkubační doba po inhalaci spor *B. anthracis* závisí na velikosti dávky. *Postexpoziční profylaxe*

antibiotiky v průběhu epidemie může vést k prodloužení inkubační doby. Experimentální výsledky na laboratorních zvířatech dokumentují, že spory *B. anthracis* konvertují do vegetativní formy v hostiteli v průběhu několika týdnů po inhalaci. Inhalované spory v alveolárních prostorách plic jsou fagocytovány plicními makrofágy. Pozvolna dochází k jejich klíčení a následnému pomnožování. Profylakticky podaná antibiotika nepůsobí na spory, ale pouze na vegetativní zárodky *B. anthracis*. Po přerušení aplikace antibiotik nevyklíčené spory (pokud jsou v dostatečném množství) přetrvávají, dochází k novému klíčení, pozvolnému narušení imunitních mechanismů a rozvoji antraxu. Letalita u neléčené plicní formy antraxu dosahuje 86–97 %.

Při teroristickém zneužití antraxu v USA v roce 2001 byl první případ plicní formy hlášen 4. října 2001 a poslední 31. října 2001. Celkem bylo potvrzeno 5 případů kožní formy, 5 suspektních forem, 9 případů plicní formy a 1 suspektní forma antraxu – celkem 20 případů a 5 úmrtí na plicní formu antraxu (Department of Health and Human Services, USA – December 2001). K rozvoji kožní a plicní formy došlo při kontaktu kůže zaměstnanců pošt s kontaminovaným povrchem poštovních pytlů – třídění dopisů nebo sekundární zvíření kontaminovaného prachu (inhalace spor).

Kontrola a prevence antraxu u zvířat

Výskyt antraxu u chovných zvířat je celosvětově kontrolován vakcinačním programem. Ve veterinární praxi se používá k ochraně hovězího dobytka živé bezkapsulární varianty *B. anthracis* kmene Stern již od roku 1939 (5). V případech úhynu na antrax jsou postižená zvířata zahrabávána do země nebo likvidována spálením. V prevenci humánní infekce se uplatňují: veterinární kontrolní opatření u chovných zvířat a na jatkách, restriktivní politika dovozu kůží a vlny z epizootických oblastí výskytu antraxu.

V experimentech bylo opakovaně potvrzeno, že aplikace sterilní edémové tekutiny z antraxových lézí navozuje u laboratorních zvířat protektivní efekt. Nicméně i po vakcinaci zvířat může dojít k rozvoji antraxu. Navozená imunita je krátkodobá, přetrvává 1–2 roky.

Protektivní imunita

První vakcína pro humánní použití (acelulární vakcína) byla připravena v roce 1954. Byla připravena z filtrátu aerobní kultury *B. anthracis*, který byl adsorbován na síran draselný-hlinitý (6). Vakcína byla testována na opičím modelu. Vykazovala u očkovaných nízkou reaktivitu a jen krátce trvající nežádoucí reakci. V letech 1957–1960 byl prováděn další vývoj vakcíny selekcí vhodného produkčního kmene *B. anthracis* s vysokou produkcí protektivního antigenu a využití hydroxidu hlinitého jako adjuvans (7). Vakcína byla licencována v USA jako antraxová vakcína AVA (č. patentu: 3 208 909/1965).

Specifické koreláty pro testování imunity proti antraxu nebyly přesně definovány. Významnou roli v humorální a buněčné odpovědi hraje protektivní antigen *B. anthracis* (PA).

Charakteristika vakcíny

AVA je licencovaná vakcína pouze pro USA (FDA USA). Výrobce je firma BioPort Corporation, Lansing, Michigan. Produkční kmen je bezkapsulární a toxigenní – V770-NP1-R (8). Je připravována z kultury bezbuněčného filtrátu *B. anthracis*, neobsahuje žádné živé ani mrtvé bakterie. Filtrát je adsorbován na adjuvans hydroxid hlinitý (Amphogel, Wyeth Laboratories), obsahuje všechny tři toxické komponenty: protektivní antigen (PA), letální faktor (LF) a protein vyvolávající edém (EF).

Ve Velké Británii je licencována vakcína AVP (Anthrax Vaccine Precipitated), která obsahuje protektivní antigen PA a letální faktor LF.

V České republice není zatím žádná licencovaná vakcína.

Primární vakcinace

Zahrnuje aplikaci tří dávek, které se podávají subkutánně v intervalu 0., 2. a 4. týden a 3 booster dávky v 6., 12. a 18. měsíci. Pro udržení imunity výrobce doporučuje roční přeočkování jednou dávkou. Důvody tohoto vakcinačního schématu nejsou blíže definovány (9). Po vakcinaci se objevuje mírná lokální reakce: erytém, edém a indurace menší než 30 mm se vyskytuje u 20 % vakcinovaných. Střední reakce – definovaná jako edém a indurace v rozmezí 30–120 mm – u 3 % očkovaných osob (10).

Závažné nežádoucí reakce se vyskytují u 1 % očkovaných.

Systémové nežádoucí reakce se vyskytují ojediněle. Byly zaznamenány přibližně v stejném rozsahu po intramuskulární i subkutánní aplikaci vakcíny. Přerušení vakcinačního schématu nevyžaduje zahájení kompletní série vakcíny nebo aplikaci dodatečné dávky. Nejsou zatím známa žádná data o vakcinaci těhotných a kojících žen. **Kontraindikací vakcinace je recentní překonání onemocnění antraxem (vysoké procento nežádoucích reakcí).**

V současné době se testuje imunogenita vakcíny s redukováným počtem dávek při intramuskulárním podání.

Při prospektivní studii očkovaných laboratorních pracovníků antraxovou vakcínou ve Fort Detricku v průběhu 25letého sledování nebyl pozorován žádný nežádoucí syndrom nebo onemocnění, které by souviselo s vakcinací (11). Při objasňování syndromu Perského zálivu (PGW) u veteránů byli vyšetřováni příslušníci nasazení do bojů, kteří byli očkováni proti antraxu. Příčinu syndromu PGW při současných znalostech se nepodařilo objasnit a nebyla prokázána žádná asociace v souvislosti s očkováním proti antraxu (12).

Účinnost vakcinace

Imunogenita vakcíny byla testována v klinické studii na dospělých dobrovolnících. Ke stanovení protilátek bylo použito reakce nepřímé hemaglutinace. Serokonverze v druhém týdnu po první dávce dosáhla 83 % a po druhé nebo více dávkách 91 %. K serokonverzi došlo u 95 % všech vakcinovaných. Čtyřnásobného titru protilátek proti protektivnímu antigenu (anti-PA IgG titry) bylo dosaženo již po třech dávkách. Přesná korelace mezi titrem protilátek a protekcí proti následné infekci není definována (13). Pokusy na experimentálním modelu opic (*Macaca mulatta*) dokumentují, že po aplikaci vakcíny AVA se dosahuje protektivní imunity, která chrání opice před inhalační limitující dávkou spor *B. anthracis* (14).

Ve výzkumném programu je zařazena příprava nových vakcín:

- **rekombinantní živá vakcína: vakcína PA + *Salmonella* PA protektivní antigen,**

- **rekombinantní subjednotková vakcína: obsahuje protektivní antigen, který je exprimovaný *Bacillus subtilis* při použití různých adjuvans (Saponin, AL3+),**

(4th Anthrax conference, Annapolis, MD, June 2001 – Helene van Cuyck).

Preexpoziční vakcinace – vakcína AVA

Profesionálně a laboratorně exponované osoby

Rutinní vakcinace je indikována u osob pracujících s velkým množstvím a denzitou kultur *B. anthracis* a **pracovníků, u kterých nelze vyloučit nebezpečí inhalační nákazy, a osob pracujících v riziku vysoké kontaminace antraxem živočišných produktů** – kožešiny, kostní moučka, vlna (15).

Rutinní vakcinace veterinářů se ve většině států neprovádí. Limitním faktorem je incidence antraxu u zvířat a odhad reálného rizika.

Bioterroristické zneužití antraxu

Preventivní vakcinace u obyvatelstva i zdravotnických pracovníků není doporučována. Preexpoziční vakcinace by měla být založena na vyhodnocení reálného rizika, které nelze předem objektivně stanovit. **Reálně se předpokládá preexpoziční vakcinace u speciálních vojenských jednotek a u selektivních skupin populace na základě vyhodnocení rizikových faktorů** (16).

Postexpoziční profylaxe – chemoprofylaxe a vakcinace

K postexpoziční profylaxi antraxu jsou doporučovány ciprofloxacin a ofloxacin, a to na základě stanovení citlivosti *in vitro* (minimální inhibiční koncentrace – MIC: pro ciprofloxacin a tetracyklin < 0,06 µg/ml – citlivé; pro amoxicilin < 0,03 µg/ml – citlivé) (1, 17). Postexpoziční chemoprofylaxe antibiotiky byla efektivní v experimentu na zvířecím modelu. Doba podávání antibiotik nebyla přesně stanovena. Z některých studií vyplynulo, že krátkodobé podávání antibiotik v délce 5–10 dní nezabrání rozvoji inhalační formy antraxu, pokud byla deponována vysoká dávka spor (18). Do listopadu 2000 nebyla zjištěna a publikována rezistence antraxových kmenů vyskytujících se v přírodě na ciprofloxacin a tetracyklin (19). Antibiotika působí pouze na klíčící spory *B. anthracis* a neúčinkují na

deponované spory v organismu. Po inhalační expozici spory mohou v plicní tkáni přežívat bez klíčení celé měsíce, jak bylo potvrzeno v experimentu na opicích (20). Délka perzistence spor antraxu v plicní tkáni exponovaných osob není známa.

Postexpoziční profylaxe proti antraxu chemoterapeutiky je doporučována po průkazné nebo vysoce pravděpodobné expozici spor *B. anthracis*. K takové expozici může dojít pouze při biologickém teroristickém napadení nebo při nehodě v laboratoři. Při bioteroristickém napadení New Yorku v říjnu 2001 bylo doporučeno k chemoprofylaxi:

- Ciprofloxacin v dávce 500 mg, orálně, 2x denně po dobu 60 dnů,
- Doxycyklin v dávce 100 mg, orálně, 2x denně po dobu 60 dnů,
- Amoxicilin v dávce 500 mg, orálně, 3x denně po dobu 60 dnů (profylaxe u dětí).

Kmen *B. anthracis* použitý k teroristickému útoku v New Yorku byl vysoce citlivý na ciprofloxacin a doxycyklin. Tato chemoterapeutika byla používána k postexpoziční profylaxi u inhalační i kožní formy antraxu. Kmen byl rovněž citlivý na chloramphenicol, clindamycin, rifampin, vancomycin a clarithromycin. U nejtěžších forem plicního antraxu byla doporučována kombinace dvou antibiotik.

Literatura

1. FRANZ, DR. – JAHRLING, PB. – FRIEDLANDER, AM., et al. Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents. *JAMA*, 1997, vol. 278, p. 399–411.
2. JEMSKI, JV. Respiratory virulence of *Pasteurella tularensis* Schu S4 strain, for man, monkey and guinea pig. April 15, 1963. DTIC recovery no. AD 498-288.
3. MESELSON, M. – GUILLEMIN, J. – HUGH-JONES, M., et al. The Sverdlovsk anthrax outbreak of 1979. *Science*, 1994, 266: 1202–1207.
4. BRACHMAN, PS., et al. epidemic of inhalation anthrax: the first in the twentieth century. II. Epidemiology. *Am. J. Hyg.*, 1960, vol. 72, no., p. 6–23.
5. STERNE, M. The use of anthrax vaccines prepared from avirulent (unencapsulated) variants of *Bacillus anthracis*. *Onderstepoort J. Vet. Sci. An. Ind.*, 1939, vol. 13, p. 307–312.
6. TRESSELT, HB. – BOOR, AK. An antigen prepared in vitro effective for immunization against anthrax. III. Immunisation of monkeys against anthrax. *J. Infect. Dis.*, 1954, vol. 73, p. 387–391.

7. PUZISS, M. – WRIGHT, GG. Studies on immunity in anthrax. X. Gel-adsorbed protective antigen for immunization in man. *J. Bacteriol.*, 1963, vol. 85, p. 230–236.
8. PUZISS, M., et al. Large-scale production of protective antigen of *Bacillus anthracis* in aerobic culture. *Appl. Microbiol.*, 1963, vol. 11, p. 330–334.
9. DARLOW, HM. – BELTON, FC. – HENDERSON, DW. The use of anthrax antigen to immunise man and monkey. *Lancet*, September 8, 1956, vol. 476, p. 9.
10. BRACHMAN, PS., et al. Field evaluation of a human anthrax vaccine. *Am. J. Public Health*, 1962, vol. 52, p. 632–645.
11. PEELER, RN. – KADUL, PJ. – CLUFF, LE. Intensive immunization of man: evaluation of possible adverse consequences. *Ann. Intern. Med.*, 1965, vol. 63, p. 44–57.
12. Iowa Persian Gulf Study Group. Self-reported illness and health status among Gulf War veterans: a population-based study. *JAMA*, 1997, vol. 277, p. 238–245.
13. TURNBULL, PCB., et al. Development of antibodies to protective antigen and lethal factor components of anthrax toxin in humans and guinea pigs and their relevance to protective immunity. *Infect. Immun.*, 1986, vol. 52, p. 356–363.
14. IVINS, BE. – FELLOWX, PF. – PITT, MLM., et al. Efficacy of a standard human anthrax vaccine against *Bacillus anthracis* aerosol spore challenge in rhesus monkeys. *Salisbury Medical Bulletin* (September 19–21) 1995, vol. 87 (suppl.), p. 125–126.
15. BRACHMAN, PS. – FRIEDLANDER, AM. Anthrax. In PLOTKIN, SA., MORTIMER, EA. (eds.). *Vaccines*. 2nd ed. Philadelphia, 1994, p. 729–739.
16. CDC. Bioterrorism alleging use of anthrax and interim guidelines for management – US, 1998. *MMWR*, 1999, vol. 48, p. 69–74.
17. DOANAY, M. – AYDIN, N. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus anthracis*. *Scand. J. Infect. Dis.*, 1991, vol. 23, p. 333–335.
18. HENDERSON, DW. – PEACOCK, S. – BELTON, FC. Observations on the prophylaxis of experimental pulmonary anthrax in the monkey. *J. Hyg.*, 1956, vol. 54, p. 28–36.
19. LIGHTFOOT, NF. – SCOTT, RJD. – TURNBULL, PCB. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus anthracis*. *Salisbury Med. Bull.* April 11–13, 1990, 68 (suppl.), p. 95–98.
20. FRIEDLANDER, AM. – WELKOS, SL. – PITT, MLM., et al. Postexposure prophylaxis against experimental inhalation anthrax. *J. Infect. Dis.*, 1993, vol. 167, p. 1239–1242.
21. ProMED-mail post. Anthrax, Human – USA: antimicrobial susceptibility. October 22, 2001.

Korespondence: Prof. MUDr. Miroslav Šplíno, DrSc.
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně
Katedra epidemiologie
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové
e-mail: splino@pmfhk.cz

Do redakce došlo 9. 4. 2002