

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA ROZVOJOVÝCH STUDIÍ

OBOR MEZINÁRODNÍ ROZVOJOVÁ STUDIA

Miroslava Kvapilová

**Virové hemoragické horečky (VHH). Lze je považovat za
potencionální biologické zbraně?**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Lenka Mařincová

Olomouc

2015

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a veškeré použité zdroje jsem uvedla v seznamu literatury.

V Olomouci dne

.....

podpis

Děkuji Mgr. Lence Mařincové za odborné vedení práce, pomoc, cenné a podnětné rady, ochotu a věnovaný čas při jejím zpracování.

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Miroslava KVAPILOVÁ**
Osobní číslo: **R12302**
Studijní program: **B1301 Geografie**
Studijní obor: **Mezinárodní rozvojová studia**
Název tématu: **Virové hemoragické horečky (VHH). Lze je považovat za potencionální biologické zbraně?**
Zadávací katedra: **Katedra rozvojových studií**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Práce se bude zabývat problematikou onemocnění virových hemoragických horeček. První část se bude věnovat jejich podrobnější charakteristice (etiologii, epidemiologii). V druhé části se zaměří na specifika výskytu VHH v rozvojových zemích a potencionální využití VHH jako biologických zbraní.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy: **10 - 15 tisíc slov**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**
Seznam odborné literatury:

CHAUHAN, By Sharad S. Biological weapons. New Delhi: APH, 2004. ISBN 81-764-8732-5. REDDY, L.R. Bio-terrorism. New Delhi: A.P.H. Pub. Corp, 2002. ISBN 81-764-8311-7. SINGH, Sunit K a Daniel RUZEK. Viral hemorrhagic fevers. Boca Raton: CRC Press, Taylor, 2014, xx, 576 p. ISBN 978-143-9884-294. SMITH, Tara C a Daniel RUZEK. Ebola and Marburg viruses. 2nd ed. New York: Chelsea House, c2011, 104 p. ISBN 16-041-3252-3. World Health Organization: Health topics. [online]. [cit. 2014-05-05]. Dostupné z: http://www.who.int/topics/haemorrhagic_fevers_viral/en/.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Lenka Mařincová**
Katedra rozvojových studií

Datum zadání bakalářské práce: **7. května 2014**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. dubna 2015**

L.S.

prof. RNDr. Ivo Frébort, CSc., Ph.D.
děkan

doc. RNDr. Pavel Nováček, CSc.
vedoucí katedry

V Olomouci dne 7. května 2014

Abstrakt

Virové hemoragické horečky (VHH) jsou vážné virové infekce charakterizované výskytem hemoragických projevů a vysokou mortalitou. Vyskytují se zejména v tropických oblastech rozvojových zemí. Přesto, že je četnost výskytu VHH v rozvinutých zemích podstatně nižší, dostávají se v polední době VHH do popředí mnoha diskuzí týkajících se možného zneužití biologických zbraní a bioteroristického útoku. Biologický útok prostřednictvím virových hemoragických horeček nebyl nikdy oficiálně zaznamenán, což však kvůli náročnosti identifikace původu dané epidemie nelze potvrdit.

Klíčová slova: Virové hemoragické horečky; biologické zbraně; bioterorismus; Ebola; infekce; vir.

Abstract

Viral hemorrhagic fevers (VHF) are serious viral infections characterized by the occurrence of hemorrhagic manifestations and high mortality. They occur mainly in tropical regions of developing countries. Despite the fact, that frequency of VHF in developed countries is significantly lower, recently they have come to the forefront of many discussions concerning the possible misuse of biological weapons and bioterrorist attack. Although the use of VHF as biological weapons have never been officially confirmed, this might result from the relative difficulty in identifying the origins of the epidemic.

Key words: Viral hemorrhagic fever; biological weapons; bioterrorism; Ebola; infection; vir.

Obsah

| | |
|---|----|
| Abstrakt | 5 |
| Abstract | 5 |
| Seznam Tabulek | 8 |
| Seznam obrázků | 8 |
| Seznam zkratk..... | 9 |
| 1. Úvod..... | 11 |
| 2. Cíle práce..... | 12 |
| 3. Metodologie práce..... | 13 |
| 4. Rešerše literatury | 13 |
| 5. Virové hemoragické horečky (VHH) | 14 |
| 5. 1. Patogeneze..... | 15 |
| 5. 2. Epidemiologie a tranzice | 16 |
| 5. 3. Klinické symptomy | 20 |
| 5. 4. Léčba a prevence | 21 |
| 5. 4. 1. Prevence | 22 |
| 5. 5. Diagnóza..... | 23 |
| 5. 6. Výskyt | 24 |
| 5. 6. 1. Filoviry | 24 |
| 5. 6. 2. Flaviviry | 25 |
| 5. 6. 3. Arenaviry..... | 28 |
| 5. 6. 4. Bunyaviry | 28 |
| 6. Biologické zbraně..... | 30 |
| 6. 1. Obecná charakteristika | 30 |
| 6. 2. Detekce biologických agens | 33 |
| 6. 2. 1. Biosenzory za použití protilátek | 33 |
| 6. 2. 2. Genomová analýza | 33 |
| 6. 2. 3. Microarray techniky | 34 |
| 6. 2. 4. SELEX..... | 34 |
| 6. 2. 5. Buněčná odpověď..... | 35 |
| 6. 2. 6. Biochemická vyšetření | 35 |
| 6. 3. Rozdělení biologických agens..... | 36 |

| | |
|--|----|
| 6. 4. Historie biologických zbraní | 40 |
| 7. Bioterrorismus | 44 |
| 8. Virové hemoragické horečky jako potenciální biologické zbraně | 47 |
| 8. 1. Historie VHH jako biologických zbraní..... | 49 |
| 9. Závěr..... | 51 |
| Seznam použité literatury..... | 52 |
| Knižní zdroje: | 52 |
| Online zdroje | 53 |

Seznam Tabulek

| | |
|--|----|
| Tabulka 1: Přehled, výskyt a etiologie VHH | 25 |
| Tabulka 2: Země se světovým přenosem | 25 |

Seznam obrázků

| | |
|--|----|
| Obrázek 1: Symbol biologického rizika..... | 32 |
| Obrázek 2: Antraxový dopis | 44 |

Seznam zkratek

| | |
|--------------|--|
| AČR | Armáda České republiky |
| BSL | Stupeň zabezpečení (Biosafety Level) |
| BW | Biologická zbraň (Biological weapon) |
| BWC | The Biological Weapons Convention |
| CCHF | Krymsko-konžská hemoragická horečka (Crimean-Congo Hemorrhagic Fever) |
| CDC | Center for Disease Control and Prevention |
| CNC | Centrální nervový systém |
| CPE | Cytopatický efekt |
| DNA | Deoxyribonukleová kyselina (Deoxyribonucleic acid) |
| ECL | Elektrochemiluminescence (Electrochemiluminescence) |
| ELISA | Enzyme linked immunosorbent assay |
| HF | Hemorrhagic fever |
| HH | Hemoragická horečka |
| HFRS | Hemoragická horečka s renálním syndromem (Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome) |
| HPS | Hantavirový plicní syndrom (Hantavirus Pulmonary Syndrome) |
| KFD | Horečka Kyasanurského lesa (Kyasanur Forest Disease) |
| MTB | Multirezistentní tuberkulóza |
| NI | Nozokomiální infekce (Nosocomial infection) |
| OHF | Omská hemoragická horečka (Omsk Hemorrhagic fever) |
| OPCW | Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons |
| PCR | Polymerázová řetězová reakce (Polymerase chain reaction) |
| qPCR | Kvantitativní polymerázová řetězová reakce |
| RES | Mononukleární fagocytární systém (Retikuloendoteliální systém) |
| RVF | Horečka Rift Valley (Rift Valley syndrome) |
| TRF | Time-Resolved Fluorescence |

| | |
|-----------------|---|
| UNODA | United Nations Office for Disarmament Affairs |
| USAMRIID | The U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases |
| VHF | Virové hemoragické horečky (Viral hemorrhagic fever) |
| WAR | War Research Service |
| WHO | World Health Organization |
| WB | Světová banka (World Bank) |

1. Úvod

V posledních dvaceti letech vzrůstá obava z bioterorismu, který byl v předešlých letech zastíněn hrozbou nukleárních zbraní. Biologické útoky zasahují do dávné minulosti a potenciál biologických zbraní se značně zvýšil v průběhu mocenského zbrojení v době probíhající studené války mezi USA a SSSR. Nicméně po r. 2001, kdy byly spáchané bioteroristické útoky prostřednictvím antraxových dopisů, se zcela změnil střed zájmů mezinárodního bezpečí a výrazně se zvýšily hrozby z možných bioteroristických útoků. Dnes však také vzrůstá obava kvůli vědeckému pokroku z možné utajené modernizace a rozšíření biologických zbraní právě ze strany teroristických skupin. Asi největší pozornosti se však v současnosti dostává, díky vypuknutí epidemie Eboly v západní Africe, virovým hemoragickým horečkám. Epidemie, která vypukla v Africe na jaře minulého roku, odstartovala vlnu otázek mezi širokou veřejností týkajících se možného zneužití a záměrného rozšíření infekčních chorob jako jsou virové hemoragické horečky.

Virové hemoragické horečky jsou virová onemocnění, která mohou způsobit vážnou chorobu, jak u zvířat, tak i u lidí. Je více druhů těchto onemocnění a část z nich díky možné tranzici z člověka na člověka či v podobě částic aerosolů může při umělém rozšíření vyvolat katastrofické dopady, způsobit tím smrt mnoha lidí a vážně poškodit infrastrukturu poškozeného regionu či státu.

Práce se dělí na dvě hlavní části, kdy se první část věnuje zejména charakteristice virových hemoragických horeček. Popis VHH je v celku obecný a je zaměřen hlavně na možný přenos, výskyt, míru onemocnění a jiné vlastnosti, které jsou potřebné pro uvědomění si závažnosti těchto onemocnění a možné dopady při jejich rozšíření prostřednictvím biologické zbraně.

Druhá část práce navazuje na první kapitolu o biologických zbraních, kde je uvedena jejich obecná charakteristika a možné typy biologických látek vhodných pro zneužití jako biologické zbraně a stručná historie pro srozumění s tímto tématem. Dále navazuje kapitola s definicí bioterorismu a s uvedenými příklady známých bioteroristických útoků. Těmto dvou kapitolám je věnována celkem velká část práce a to z důvodu celkového pohledu na opomíjení hrozby biologických zbraní a snahy zneužít VHH jako biologické zbraně.

Poslední kapitola je odpovědí na hlavní otázku této práce získanou díky informacím zmíněným v průběhu celé práce.

2. Cíle práce

Hlavním cílem této práce je odpověď, na v současnosti často kladenou otázku, týkající se bioterorismu a potencionálního využití VHH jako biologických zbraní. K zodpovězení hlavní otázky je důležité zaměřit se na vedlejší cíl této práce, což je charakteristika virových hemoragických horeček a přiblížení toho, jak jsou onemocnění VHH závažná a stručný přehled, kde se tato onemocnění v současnosti vyskytují.

Další nedílnou součástí je otázka vztahující se na biologické zbraně, jejich výrobu a využití v historii a zneužití různých biologických agens v rámci biologického či bioteroristického útoku.

3. Metodologie práce

Bakalářská práce je zpracována kompilačně-rešeršní metodou, kdy jsou data, informace, poznatky z historie a současnosti sesbírány, analyzovány a následně interpretovány v textu. Data jsou v této práci získávány zejména rešerší z relevantních zdrojů a jsou ověřovány u více pramenů. Většina informací byla získána z anglických zdrojů.

Práce obsahuje značnou část lékařské a jiné odborné terminologie, která nemusí být pro čtenáře vždy srozumitelná, a proto jsou některé pojmy vysvětlené v poznámkách pod čarou. Zvláště v první kapitole o virových hemoragických horečkách je velké množství slov následně definováno.

V práci se objevuje malý počet obrázků a tabulek, které pomáhají čtenáři v orientaci textu. Citační aparát je veden v tzv. harvardském stylu, kdy se nachází odkazy použité literatury přímo v textu v kulatých závorkách.

4. Rešerše literatury

Dané téma nebylo doposud komplexněji sepsáno, proto je práce zpracovaná zejména pomocí dat získaných z databází mezinárodních organizací a institucí a jejich publikací. Významná část informací byla získána z odborných článků dostupných z univerzitních databází. Většina použitých zdrojů byla cizojazyčná.

První část práce o virových hemoragických horečkách byla zejména zpracována pomocí dat a číselných údajů získaných z databází Světové zdravotnické organizace (WHO) a Centra pro prevenci a kontrolu chorob (CDC). Pro charakterizaci VHH byl také použit velký počet lékařských odborných článků získaných z univerzitních databází.

Velký podíl informací získaných pro zpracování druhé části byl získán z odborné publikace NATO (1996), z odborných webových stránek a z knižních zdrojů týkajících se daného tématu.

5. Virové hemoragické horečky (VHH)

Virové hemoragické horečky, někdy také nazývané virové krvácivé horečky, jsou vážná infekční onemocnění charakteristická zejména krvácivými projevy. Ve většině případů se VHH objevují v tropických oblastech a to jak u lidských jedinců, tak i u zvířat. Jelikož se onemocnění VHH vyskytují zejména v oblastech s omezenou lékařskou péčí, dosahují ve většině případů vysoké úmrtnosti (Pohanka, 2010). Avšak v důsledku globalizace, nárůstu mezinárodního cestování, zvýšení počtu imigrantů v rozvojových¹ zemích, propuknutí epidemie Eboly v západní Africe na jaře roku 2014 a neposledně jejich možné využití jako bio-teroristických zbraní, v současné době budí obavy široké veřejnosti také v rozvinutých zemích. VHH jsou původu RNA-virů², které se rozdělují do čtyř různých čeledí: flaviviridae, filoviridae, arenaviridae, bunyaviridae (Machala, 2009).

VHH jsou typické velice rychlou progresí, kdy jsou v počátku symptomy³ nemoci podobné obyčejné chřipce, jako bolest krku, hlavy a břicha, vysoká teplota, bolest kloubů, svalové křeče, vyčerpání a únava. V některých případech bývá onemocnění doprovázeno příznaky, jako je zánět hltanu, škytavka a méně obvykle i zánětem spojivek, žloutenkou a otoky. Nemoc je doprovázena těmito příznaky po dobu prvního týdne nemoci, poté následují krvácivé projevy jako petechie⁴ a otevřené krvácení nejčastěji do zažívacího traktu, které bývá často příčinou hemoragického (krvácivého) šoku a následné smrti. (Boardman, 2003)

¹ Světová banka rozděluje země podle HND na osobu do čtyř důchodových kategorií: země s nízkým důchodem (\$1,045 a méně), nižším středním důchodem (\$1,046 – \$4,125), vyšším středním důchodem (\$4,126 – \$12,745), s vysokým důchodem (\$12,746 a více) (WB, 2015). WB přímo nevymezuje země na rozvojové a rozvinuté, ale většinou jsou za země rozvojové považované země prvních tří skupin, a na rozvinuté všechny země s vysokým důchodem (Srovátka, 2014).

² RNA viry jsou viry, které ve své částici (virionu) obsahují ribonukleovou kyselinu (RNA). Většina z nich infikuje živočišné buňky. (Mosby's Medical Dictionary, 2009)

³ Také příznak např. nějaké nemoci.

⁴ Petechie je drobné tečkovité krvácení do kůže či sliznic (Vokurka, 2009).

5. 1. Patogeneze⁵

Patogeneze Virových hemoragických horeček je velice rozmanitá. Nejčastěji dochází k méně i více závažným hemoragickým komplikacím, které mohou vážně poškodit některé orgány, zejména ledviny a játra (Machala, 2009). Nejzávažnější jsou nemoci způsobené virem čeledi filoviridae. Ty způsobují infekci, která může vést k vážné virové hemoragické horečce a to jak u lidských, tak i u zvířecích primátů. Dělí se na dva hlavní typy VHH-Marburg a Ebolu. Viry jako první napadají mononukleární fagocytární systém⁶ (RES), který vede k tzv. cytopatickému efektu⁷ (CPE) různých typů buněk a následně dochází ke krvácení, aktivaci koagulačního systému⁸ a končí šokem, který bývá často zakončen i smrtí. Může dojít i k dalším imunosupresivním⁹ mechanismům, jako například k odumírání sleziny či lymfatických žláz (Boardman, 2009). V případě VHH Eboly a Marburg k hemoragickým projevům dochází asi u 30 % případů onemocnění a mortalita se pohybuje mezi 20 % až 90 % (WHO, 2014).

U VHH způsobených virem z čeledi flaviviridae není přítomnost hemoragických komplikací tak častá, dochází k nim asi jen u 1 % případů onemocnění (Machala, 2009). Žlutá zimnice je nejdéle známá hemoragická horečka z této čeledi, avšak obecně známější je horečka dengue. Podle Slobodana (2013) může při vážnějších případech těchto onemocnění dojít i k silné infekci a selhání funkce jater, k tubulární nekróze¹⁰ ledvin, k proteinurii¹¹ a anurii¹², kdy téměř u všech případů žluté zimnice, kdy se komplikace vyvinuly až k zmíněné anurii, končily smrtí (Slobodan, 2013). Mortalita může u vážnějších případů žluté zimnice dosáhnout 20 až 50 % (CDC, 2011) a mortalita horečky dengue se pohybuje kolem 20 %, avšak pokud je nemocnému poskytnuta dostatečná zdravotní péče, může mortalita činit pouhé 1 % (WHO, 2014).

⁵ Patogeneze je nauka o vzniku mechanismu nemoci (Vokurka, 2009).

⁶ Mononukleární fagocytární systém (Retikuloendoteliální systém) je soustava fagocytujících buněk roztroušená v řadě orgánů, zejm. ve slezině, játrech, lymfatické tkáni. Podílí se na imunitě organismu. Fagocytóza je pohlcení a zničení cizorodého materiálu, např. bakterie či vlastních poškozených a odumřelých buněk. (Vokurka, 2009)

⁷ CPE jsou morfologicky patrné důsledky infekce buňky virem. (Vokurka, 2009)

⁸ Koagulační systém zajišťuje srážení krve (Vokurka, 2009).

⁹ Imunosuprese je stav snížené imunity (Vokurka, 2009).

¹⁰ Tubulární nekróza je syndrom vedoucí k akutnímu selhání ledvin, které je způsobeno poškozením ledvinných tubulů. Způsobeny nejčastěji nedostatečným prokrvením ledvin (Vokurka, 2009).

¹¹ Proteinurie je přítomnost bílkovin v moči. Obvykle svědčí o onemocnění močového ústrojí či jiných orgánů. (Vokurka, 2009)

¹² Anurie je zástava močení a tvorby moči. Provází selhání funkce ledvin. (Vokurka, 2009)

Viry čeledi arenaviridae jsou rozděleny do dvou dalších skupin a to na horečky Nového a Starého světa, podle toho, kdy byly poprvé objeveny (CDC, 2013). Většina případů nákazy arenavirem začíná zánětem sliznic nosohltanu. Krvácení je v tomto případě nejčastěji způsobeno cirkulací inhibitoru¹³ shlukováním krevních destiček v krevním oběhu a trombocytopenií¹⁴. Lassa vir je eliminován buněčnou imunitní reakcí a u horeček Nového světa je vir eliminován buněčnou i látkovou (humorální) imunitní reakcí (Plesník, 2002). Úmrtnost způsobená těmito VHH se průměrně pohybuje mezi 0 – 15 % a výrazně se liší mezi jednotlivými typy (CDC, 2013).

VHH čeledi bunyviridae jsou rozděleny na tři základní typy (viz. Tabulka 2). Vážnější typ těchto infekcí může způsobit zánět sítnice oka, zánět mozkových blan či ledvinové léze¹⁵, které způsobí jejich následnou disfunkci a možné krvácivé projevy (Baron, 1996). U HH renálního syndromu může dojít i ke krvácení do centrální nervové soustavy. V případě viróz čeledi bunyviridae se úmrtnost pohybuje mezi 1 – 15 % a to pouze u vážnějších typů těchto onemocnění. (CDC, 2013a)

5. 2. Epidemiologie a tranzice

Viry způsobující VHH jsou zoonotické¹⁶, což v tomto případě znamená, že viry přirozeně sídlí na živočišném rezervoáru¹⁷, nebo je vektorem¹⁸ členovec. Na svém hostiteli jsou zcela závislí, umožňuje jim, jak replikaci¹⁹, tak celkové přežití. Pro většinu virů způsobujících VHH jsou hlavními rezervoáry členovci, či hlodavci (Bairwa, 2011).

Rezervoár krvácivé horečky Eboly a Marburg není přesně známý, ale je pravděpodobné, že hlavním hostitelem je živočich původem z Afriky. Zejména primáti jsou velice náchylní k infekci virem a zvířecí primáti jsou většinou hlavním přechodem k lidské infekci. Avšak primáti nejsou považováni za opravdové rezervoáry, kteří jsou základním činitel patogeneze viru u afrických opic, šimpanzů, makaků a velkých opic. Za

¹³ Inhibitor je látka, která je schopna tlumit určitý děj (Vokurka, 2009).

¹⁴ Trombocytopenie je nedostatek krevních destiček trombocytů v krvi v důsledku jejich malé tvorby např. při útlumu kostní dřeně, nebo jejich zvýšeného zániku např. v rámci autoimunitního onemocnění, při němž jsou destičky ničeny vlastními protilátkami. Výrazný nedostatek vede ke spontánnímu krvácení z dásní, sliznic, do kůže aj. (Vokurka, 2009)

¹⁵ Léze je poškození, postižení, porucha orgánu či tkáně, které má za následek narušenou funkci v důsledku chorobného procesu nebo úrazu. (Vokurka, 2009)

¹⁶ Zoonotický nebo-li týkající se zvířat, je šíření infekce mezi zvířaty a poté potenciálně na člověka. (Vokurka, 2009)

¹⁷ Rezervoár označuje přirozený zdroj a prostředí k přežívání nákazy (v tomto případě viru). (Vokurka, 2009)

¹⁸ Vektor znamená přenašeč. Pojem vektor se používá zejména v epidemiologii. (Vokurka, 2009)

¹⁹ Replikace, rozmnožování – v tomto případě dělení buňky. (Vokurka, 2009)

nejpravděpodobnějšího hostitele jsou považováni netopýři (tzv. netopýři ovocní a hmyzožraví), přesto ale není znám přírodní původ viru. Amy Boardman (2003) uvádí, že k přenosu z živočicha na člověka dochází nejčastěji při kontaktu s přechodným hostitelem, který byl infikován primárním rezervoárem, čímž za přechodné hostitele Boardman (2003) považuje zvířecí primáty, kteří se nakazili při kontaktu (např. kousnutí) s infikovanými netopýři, infikovaní primáti jsou následně loveni lidmi a tím se lidé dostávají do blízkého kontaktu s právě infikovanými primáty a nakazí se virem. Toto tvrzení zcela nepotvrzuje Slobodan (2013), který uvádí i případ vypuknutí lidské epidemie krvácivé horečky Eboly v Demokratické republice Kongo zapříčiněný pozřením infikovaných netopýřů. V čem se však tyto dva autoři shodují, i spolu s ostatními autory charakterizující epidemiologii krvácivých horeček Eboly a Marburg, je popis přenosu těchto nemocí z člověka na člověka.

Riziko tranzice z člověka na člověka je nejvyšší při pozdějším stádiu nemoci (krvácivé komplikace). Přenos je pravděpodobný při velmi blízkém osobním kontaktu, například u pečovateli a rodinných blízkých, kteří pečují o nemocné, či kontaktu s infikovanými tělními tekutinami (krev, zvratky, moč a výkaly). Velké riziko nakažení hrozí také při manipulaci s lidskými ostatky a to kvůli vysoké hladině virových antigenů a částic v kožních tkáních. Velmi často je způsoben přenos nemoci ve zdravotnických a nemocničních zařízeních, kdy jsou opakovaně používané nesterilní injekce a jehly a v zařízení je nedostatek vhodných bariér a opatření pro manipulaci s infikovanými tělními tekutinami (Boardman, 2003). Nozokomiální²⁰ přenos nemoci je jedna z nejčastějších příčin vypuknutí epidemií v rozvojových oblastech a to u většiny vysoce nakažlivých (infekčních) nemocí (Ftika, 2012). Ebola i Marburg jsou také velmi stabilní a infekční v podobě malých částic aerosolu, což vypovídá o tom, že je možný přenos viru vzduchem. Přenos infekce v podobě aerosolů je v tomto případě vedlejším způsobem přenosu, avšak je to potencionálně důležitý způsob rozšíření nákazy v možném bioteroristickém útoku. Inkubační doba se pohybuje od 2 do 21 dnů, ale průměrná doba je 8 – 10 dnů. V průběhu inkubační doby je velmi malá pravděpodobnost nákazy druhé osoby (CDC, 2015). Pokud je pacient vyléčen z HH Eboly a Marburg není již pro své okolí infekční. Výjimkou je však u HH Eboly sperma uzdravených mužů, kterým se může virus vylučovat až tři měsíce od uzdravení. Proto je doporučována sexuální abstinence či důsledné používání kondomů po dobu tří měsíců od uzdravení (Boardman, 2003).

²⁰ Nozokomiální infekce (NI) je nákaza vzniklá při pobytu v nemocnici nebo v příčinné souvislosti s tímto pobytem.

Hlavními přenašeči VHH čeledi flaviviridae jsou členovci. Žlutá zimnice a HH dengue jsou primárně přenášeny komáry rodu *Aedes*. Člověk se nakazí tím, že komár bodne infikovaného primáta (lidského či zvířecího), tím se stane infikovaný a následně bodne člověka, který se bodnutím stává nakažený. Vir se nachází zejména ve venkovských oblastech, ale někdy je také přenesen infikovaným člověkem do městských oblastí, kde je následně šířen tzv. městskými komáry, nejčastěji komáry rodu *Aedes aegypti* (CDC, 2011b). První příznaky nemoci se většinou objeví 4 – 7 dnů po bodnutí komára a trvají průměrně 3 – 10 dnů. Komár může být infikován při bodnutí člověka, až při pátém dni od vypuknutí nemoci, kdy je velké množství viru v krvi nakaženého. Potom, co je komár nasycen infikovanou krví, probíhá inkubační doba, která trvá 8 – 12 dní a teprve potom může komár infikovat dalšího člověka. U hemoragické horečky dengue byly zaznamenány případy přenosu viru transplantovanými orgány, či transfúzemi krve od nakaženého dárce. Také jsou záznamy o přenosu viru z těhotné ženy na její plod, avšak tyto případy jsou zaznamenávány zřídka, za většinu přenosu nemoci odpovídá komár *Aedes* (CDC, 2014b).

Omská HH a horečka Kyasanurského lesa je přenášena ve většině případů kousnutím klíštěte. U Omské HH je také velké riziko přenosu nemoci, při kontaktu s krví, výkaly, či močí infikovaného zvířete, v tomto případě nejčastěji s hlodavci. Byly zaznamenány i případy, kdy byl člověk nakažen skrz mléko infikované kozy. (CDC, 2013b) U horečky Kyasanurské horečky, nebyl žádný takový případ nakaženého člověka skrz kravské či kozí mléko zaznamenán. Domácí zvěř, jako krávy, kozy a ovce mohou být nakaženy virem Kyasanurského lesa a mohou přenést vir na další klíště, ale přenos viru z těchto zvířat na člověka nebyl nikdy zaznamenán. U obou případů horeček není žádný záznam o případu tranzice z člověka na člověka. (CDC, 2013c)

U všech VHH virů z čeledi arenaviridae jsou hlavními rezervoáry a vektory hlodavci. U všech HH těchto virů jsou znaky přenosu velmi podobné a primárně se vyskytují v Latinské Americe. Jediné HH Lassa a Lujo se od ostatních horeček mírně liší a vyskytují se v Africe. Přenos těchto horeček je nejčastěji způsoben přímým kontaktem s infikovanými hlodavci, nebo s jejich krví, výkaly či mršinami. Přenašečem jsou často myši, které se pohybují v obydlí a například okousávají potravu, kterou následně sní lidé a tím se nakazí. V některých oblastech myši slouží jako potrava, takže se lidé mohou nakazit i po jejich pozření. Všechny HH arenaviridae jsou také přenášeny na člověka vzduchem v podobě malých částic aerosolů. Například vir Junin Argentinské HH, je velice stabilní a infekční v podobě malých částic

aerosolů a pouze malé množství těchto částic aerosolů může způsobit vysokou morbiditu²¹ a mortalitu. Z těchto zmíněných vlastností viru Junin lze usoudit, že by mohl být použit jako biologická zbraň. Přenos z člověka na člověka v případě těchto VHH je zaznamenáván zřídka, avšak je mnoho případů nozokomiálních infekcí zapříčiněných, jak již bylo podle Slobodana (2013) uvedeno, nedostatečnými hygienickými opatřeními ve zdravotnických zařízeních.

Každá z HH viru bunyaviridae se od sebe liší jak typem vektoru, tak typem hostitele a naopak se vlastnosti tranzice podobají tranzicím, již některých popsanych VHH. Krymsko-konžská HH se svým způsobem přenosu podobá Omské HH a HH Kyasanurského lesa. Jejím hlavním vektorem a rezervoárem je klíště rodu *Hyalomma* (tzv. anatolské klíště). Dalšími významnými hostiteli jsou domácí zvířata jako skot, kozy, ovce a v méně častých případech i ptáci. Přenos viru na člověka probíhá buď kousnutím klíštěte, či při kontaktu s infikovanou krví zvířat nebo nakaženého člověka. Případy přenosu nákazy z člověka na člověka jsou výjimečné. Rizikovou skupinou, která je nejčastěji Krymsko-konžskou HH nakažena bývají farmáři a to kvůli práci s dobyt看em a pohybem v oblasti výskytu klíšťat. Nozokomiální tranzice je další častý způsob přenosu viru z člověka na člověka (Ftíka, 2012).

Způsob tranzice HH Rift Valley je velice podobný přenosu u žluté zimnice a HH dengue. Hlavním přenašečem je komár a velmi zřídka i jiný hmyz. Komár bodnutím přenáší vir zejména na zvířata (větší zvířata a hlodavci), za to přenos viru bodnutím na člověka není tak častý. Na člověka je nejčastěji přenášen při přímém kontaktu s infikovanou krví zvířat nebo jejich orgány a méně často při pozření kravského či kozího mléka z infikovaného zvířete. Velice důležitým faktorem při rozšíření Rift Valley HH jsou přírodní podmínky. Ve východní Africe je vysoká četnost vypuknutí epidemie této HH v oblastech deštných pralesů v době období silných dešťů při tzv. jižní oscilaci²², kdy jsou nejlepší přírodní podmínky pro reprodukci případných infikovaných komárů. Infikovaná samička komára, přenáší vir na svá vajíčka a díky vlhkému prostředí samička naklade větší množství vajíček, což způsobí větší počet infikovaných komárů a tím pádem větší množství infikovaných zvířat a lidí. Bohužel tento vir postihuje nejčastěji domácí zvířata, která jsou následně majitelé nuceni utratit a tím ztrácí významný zdroj příjmů. (WHO, 2015)

Virus Hantaan způsobuje hemoragické horečky HH s renálním syndromem. Hlavním hostitelem i přenašečem jsou hlodavci. Člověk je ve velkém riziku při blízkém kontaktu s infikovaným hlodavcem. Nejčastěji bývají infikováni prostřednictvím dýchacích cest, kdy

²¹ Morbidita nebo-li nemocnost, většinou vyjadřuje rozšíření určité nemoci v daném časovém úseku na 100 000 obyvatel. (Vokurka, 2009)

²² Tzv. jižní oscilace neboli el Niño je zeslabení studeného oceánského Peruánského proudu (též Humboldtův proud) a s tím související oteplení tamních vod (Herring David, 1999).

vdechnou částice aerosolu z krve, výkalů, moči či mršiny infikovaného hlodavce. Nakazit se mohou taky při vniknutí některé z infikovaných částic do otevřené rány na kůži člověka. Přímý přenos viru z člověka na člověka je velmi vzácný. (CDC, 2011a)

5. 3. Klinické symptomy

O symptomech virových hemoragických horeček jsem se stručně zmínila již v úvodní části této kapitoly. Nyní se budu snažit charakterizovat klinické příznaky o něco podrobněji. Klinické příznaky virových hemoragických horeček jsou si u všech horeček dost podobné a podle jejich průběhu je můžeme rozdělit do dvou fází. První symptomy se ve většině případů objeví asi po 2 – 8 dnech od infikování virem. Inkubační doba může být i delší, jako například u HH renálního syndromu, kdy se první příznaky mohou (i když velmi zřídka) projevit až po dvou měsících od nakažení. (CDC, 2011a) U některých HH může být průběh nemoci velmi mírný až asymptomatický, což znamená, že člověk je nakažený, ale neprojevují se u něj žádné příznaky nemoci a člověk se po určité době, díky dobré imunitě, sám uzdraví. Pokud se však příznaky dostaví, tak například v podobě únavy, bolesti svalů a kloubů, intenzivní bolesti hlavy a zad, křečemi svalů, bolestí v břišní oblasti, bolesti v krku a oblasti hrudníku, horečky, zvracením a průjmem. Všechny jmenované příznaky patří do první vlny nebo také fáze příznaků HH a patří mezi prvotní a mírnější znaky HH, které se podobají obyčejné chřipce. Mohou se také objevit příznaky jako petechie, mírné krvácení z dásní a nosu, bolest očí. Méně často dochází k zánětu spojivek a dlouhodobějším příznakům, jako je například žloutenka. U HH Rift Valley může u 10 – 15 % případů dojít k onemocnění očí, které doprovází první fázi příznaků a po 1 – 3 týdnech od prvních příznaků se mohou na očích objevit tzv. léze, které mizí obvykle po 10 – 12 týdnech. Nemocný má v průběhu onemocnění výrazně horší zrak a v některých případech dochází i k úplnému oslepnutí. (CDC, 2013d)

Mírné příznaky průměrně asi po 2 – 3 týdnech následuje druhá fáze příznaků, která je doprovázena zejména krvácivými komplikacemi, jako je gastrointestinální krvácení²³-meléna²⁴, hemateméza²⁵ a hematurie²⁶. Další typické příznaky jsou silné krvácení z dásní a nosu, nízký krevní tlak, anorexie, zánět slinivky břišní, delirium²⁷, selhání některých orgánů

²³ Gastrointestinální krvácení je krvácení do zažívacího traktu (Vokurka, 2009).

²⁴ Meléna je dehtovitě černá stolice obsahující natrávenou krev (Vokurka, 2009).

²⁵ Hemateméza je zvracení krve či zvracení s příměsí krve (Vokurka, 2009).

²⁶ Hematurie je přítomnost krve v moči (Vokurka, 2009).

²⁷ Delirium porucha vědomí, pozornosti, vnímání, myšlení, paměti, organický mozkový syndrom s prudkým průběhem (Vokurka, 2009).

(nejčastěji játra a ledviny) a životních funkcí. U některých VHH dochází k napadení centrální nervové soustavy – encefalitida, meningitida²⁸. Tyto příznaky trvají průměrně 2 – 6 dnů a bohužel jsou ve většině případů zakončeny smrtí. U HH Rift Valley, žluté zimnice, Omské HH, HH Kaysanurského lesa a všech horeček viru arenaviridae mimo Argentinskou HH dochází k druhé vlně příznaků asi jen v 1–20 % případů onemocnění. (CDC, 2013i) V případě HH renálního syndromu původu viru Hantaan, HH dengue, Argentinské HH jsou vážné příznaky častější a U HH Marburg a Ebola k nim dochází ve většině případů. Vhodná lékařská péče může druhou vlnu příznaků často předejít, bohužel je v rozvojových zemích nedostatečná a bývá poskytnuta až při vážnějších komplikacích, když už se smrti nedá předejít. (Ftika, 2012)

5.4. Léčba a prevence

Viry hemoragických horeček se neustále vyvíjí a stále se s časem rozšiřují na více podtypů, proto je i přes snahy těch nejlepších lékařů a vědců velice složité vyvinout vakcínu či antivirotika²⁹ pro jejich léčbu. Základní léčbou VHH je tzv. podpurná terapie, kdy jsou pacienti vyrovnávány a doplňovány tekutiny v těle, je vyvažována nerovnost elektrolytů³⁰ a hladina kyslíku v těle. Dále je udržován krevní tlak a krev, kterou pacient ztratil, je nahrazena transfúzemi krve. Pokud VHH doprovází jiné infekce, jsou na jejich léčbu použita antivirotika nebo jiné protizánětlivé léky. Je třeba dbát na to, aby nebyly podávány pacientovi žádná nesteroidní protizánětlivá léčiva (př. aspirin, ibuprofen, naproxen), která by mohla zvýšit míru krvácení (CDC, 2014a). U pacientů v kritickém stavu může dojít k poruchám, které mohou způsobit multiorgánové³¹ selhání, jako je syndrom dechové tísně dospělých (ARDS), akutní selhání ledvin, záchvaty a kóma, u kterých je potřeba nezbytných specifických zakročení, jako je použití mechanické ventilace či dialýzy³². Protizánětlivá léčiva jako jsou např. kortikosteroidy, se někdy používají při léčbě druhotných infekcí, jako

²⁸ Meningitida je zánět, zápal mozkových blan (Vokurka, 2009).

²⁹ Antivirotika jsou léčiva, která se užívají v terapii virové infekce. Stejně jako jsou antibiotika užívána v boji proti specifickým bakteriím, tak i antivirotika jsou užívána proti specifickým virům (Pohanka, 2010).

³⁰ Elektrolyty jsou nabitě ionty, které se podílejí na udržení stálého pH v organismu. Na tomto udržování se nejvíce podílejí ledviny a plíce. Elektrolyty jsou většinou ionty rozpuštěných solí. Nejdůležitější jsou pro naše tělo ionty sodíku a draslíku. Už při malém nedostatku těchto iontů v těle, může dojít k velkým změnám organismu (MedicineNet, 2014).

³¹ Multisystémové selhání orgánů, je stav, ke kterému dochází ve chvíli, kdy dva nebo více orgánů či orgánových soustav není schopno zajišťovat homeostázu (stabilní stav orgánů) (Kolektiv autorů, 2008).

³² Dialýza je proces, který v tomto případě nahrazuje funkci ledvin, z těla odstraní odpady metabolismu, které jsou u zdravého člověka normálně odstraňovány pomocí ledvin (Vokurka, 2009).

jsou encefalitida a meningitida. Další lék, který je při léčbě VHH někdy používán, je antivirotikum ribavirin, který je v celku efektivní při léčbě Lassa HH, Krymsko-konžské HH a HH renální syndromem. (Boardman, 2003)

Celková léčba VHH je technicky a finančně velice náročná, což je hlavní překážkou pro úspěšnou léčbu v rozvojových zemích, kde jsou lékařská zařízení nedostatečně zařízena a pokud potřebná zařízení mají, je jich nedostatek. To, že neexistuje žádná vakcína ani antivirotikum pro léčbu VHH, jejich léčba je velice nákladná, náročná a jsou potřebná specifická opatření, je velice kladným faktorem pro bioterorismus.

5. 4. 1. Prevence

Prevence před nákazou hemoragických horeček záleží na typu přenašeče. V případě hlodavců je důležité mít pod kontrolou a sledovat populaci hlodavců, udržovat hlodavce mimo obydlí a obydlí udržovat čisté, tak aby se nikde nevyskytovaly výkaly a mršiny případných nakažených hlodavců. Pokud je přenašečem hmyz (klíště, komár) je primární ochranou použití repelentu, dále vhodné oblečení – dlouhé rukávy a nohavice, které chrání před případným kousnutím či bodnutím a bariéry pro hmyz, jako jsou ochranné sítě na oknech a moskytiéry.

Další možnou prevencí je očkování, které je ale možné pouze u žluté zimnice. Vakcína, která se používá proti nákaze HH žlutá zimnice, se nazývá *Stamaril* (Petráš, 2014). Proti nákaze ostatních hemoragických horeček neexistují žádné oficiální vakcíny. Pokud je zaregistrován přenos z člověka na člověka je důležité izolovat od ostatních lidí nakažené jedince, co nejdříve identifikovat typ VHF a dodržovat hygienické předpisy proti šíření infekce. Amy Boardman (2003) ve svém článku zmiňuje manuál nazývaný *Infection Control for Viral Hemorrhagic Fevers in the African Health Care Setting*, který byl napsán skupinou expertů z CDC a WHO a vydán v roce 1998. Byl vytvořen jako reakce na epidemii v Kikwit (Demokratická republika Kongo) v r. 1995, kde získali vědci spoustu nových znalostí o virových hemoragických horečkách. Tento manuál slouží jako příručka a pomůcka pro lékařský personál ve zdravotnických zařízeních, kde se objeví případ či dokonce vypukne epidemie VHF a je volně dostupný na stránkách CDC³³. Mezi základní opatření pro nemocniční personál patří nošení ochranného oblečení, jako je maska, gumové rukavice, ochranné brýle, talár a další opatření jako je užívání sterilizovaných nástrojů, izolování a bezpečná manipulace s infikovanou krví a jinými tělními tekutinami, apod. (Bairwa, 2011) CDC v r. 2005 vydal také zprávu, která se nazývá *Viral Hemorrhagic Fevers extended*

³³ Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/abroad/pdf/african-healthcare-setting-vhf.pdf>.

message, která je určena pro obyvatele, kteří se nachází v rizikové oblasti, kde právě propukla epidemie některé VHF a obsahuje základní informace o hemoragických horečkách a základní instrukce, jak předejít samotnému nakažení, nebo jak se chovat, pokud zjistíte, že jste nakažený. Tento dokument je volně dostupný na stránkách CDC.³⁴ Velice důležité je, pokud máte podezření, že jste byl/a infikován/a některou z VHF, vyhýbat se kontaktu s jinými lidmi a neprodleně kontaktovat lokální infekční zdravotnické zařízení. (Boardman, 2003)

5. 5. Diagnóza

Obecně k diagnóze virových krvácivých horeček dochází u pacientů, kteří se pohybovali v endemické oblasti v průběhu tří týdnů od vypuknutí epidemie HH, byli v kontaktu s krví či jinými tělními tekutinami nakaženého člověka nebo zvířete a neposledně u pacientů, kteří manipulovali se vzorky virů hemoragických horeček. Tito pacienti jsou izolováni do karantény a až při prvních příznacích jsou jim odebrány vzorky krve pro laboratorní testy, protože po dobu inkubační doby není možná laboratorní diagnostika. (Boardman, 2003) Laboratorní diagnostika virových hemoragických horeček je prováděna ve specializovaných laboratořích se stupněm zabezpečení BSL-4³⁵ (Pohanka, 2010). Jedna z nejčastějších metod pro diagnostiku VHH je PCR³⁶ (*Polymerase chain reaction*, polymerázová řetězová reakce). Tato metoda je velice sensitivní na přítomnost viru a už při prvních příznacích infekce je schopna prokázat přítomnost virové RNA. Další obvyklá metoda pro diagnostiku VHH je metoda nazývaná ELISA³⁷ (*enzyme linked immunosorbent assay*), která je založena na vysoce specifické vazebné reakci mezi antigenem a protilátkami IgG a IgM³⁸. (Sapsford, 2008) Podle doktora Bairwu (2011) je u diagnostiky filovirusů velmi

³⁴ Dostupné z: <http://emergency.cdc.gov/firsthours/vhf/messages.asp>.

³⁵ BSL-4(biosafety level 4, 4. stupeň zabezpečení) jsou laboratoře, kde se pracuje s patogeny šířícími se aerosolem, které způsobují neléčitelné nemoci nebo nemoci s velmi vážným průběhem a vysokou předpokládanou úmrtností. Veškeré práce probíhají v laminárních boxech a za použití filtroventilačního tlakového oděvu. Vstup do laboratoře je možný jen přes dvoje dveře elektronicky jištěné, aby je nebylo možné otevřít současně. V mezi dveřním prostoru je stanoviště osobní očišty. Materiál vstupující nebo vystupující z laboratoře je sterilizován v prokládacích autoklávech. Například v ČR žádná tato oficiální laboratoř neexistuje. Pro tyto účely je smluvním zařízením České republiky BSL-4 laboratoř v Německu v Institutu Roberta Kocha v Berlíně. (Pohanka, 2010)

³⁶ PCR je jedna z metod molekulární biologie, umožňuje mnohonásobné zmnožení určitého úseku DNA i z jejího nepatrného množství v podstatě z jediné molekuly. DNA pak může být využita k dalšímu zkoumání. V lékařství se užívá např. v genetice a k diagnóze některých infekčních nemocí. (Vokurka, 2009)

³⁷ ELISA je rutinní metoda používaná pro diagnostiku nemocí za pomoci průkazu tvorby specifických protilátek. (Pohanka, 2010).

³⁸ Imunoglobulin G (IgG) je nejspecifičtější typ protilátky nacházející se v těle. Vyskytuje se ve všech tělních tekutinách. Imunoglobulin M (IgM) je druhá nejčtenější protilátka nacházející se v těle. Vyskytuje se zejména v krvi a v lymfatických tekutinách. Tyto protilátky v těle jsou proteiny vytvářené imunitním systémem, jako

úspěšná elektronová mikroskopie³⁹ a Pohanka (2010) uvádí také metody jako elektrochemiluminescence (ECL) a Time-Resolved Fluorescence (TRF), které fungují na podobném principu jako ELISA, ale nepatří mezi nejobvyklejší typy detekce virů virových hemoragických horeček v těle.

5. 6. Výskyt

5. 6. 1. Filoviry

Marburská nemoc byla paradoxně poprvé objevena v Evropě a to v laboratořích v Německu a bývalé Jugoslávii, kde pracovníci laboratoře zkoumali vzorky tkáně a krve zelených opic dovezených z Ugandy. Nakazilo se několik osob a nakonec bylo zaznamenáno 31 nakažených, z nichž 7 zemřelo. Od r. 1967 po současnost byly zaznamenány další desítky případů vypuknutí nemoci Marburg. V letech 2004 – 2005 propukla epidemie Marburské nemoci v Angole v provincii Uige, bylo zaznamenáno 252 nakažených a z toho 227 úmrtí, mortalita dosahovala 90 % (CDC, 2014). Tato epidemie je vzhledem k počtu nakažených a mrtvých zatím největší zaznamenaná epidemie horečky Marburg v historii.

Horečka Ebola je díky současné epidemii v západní Africe nejznámější VHH na světě. První případ Eboly byl zaznamenán v roce 1976 v Nzara v Sudánu a v Yumbuku v Demokratické republice Kongo. Ebola v DRK v roce 1976 byla nejčastěji přenášena individuálním kontaktem a také kontaminovanými injekcemi a jehlami v místních nemocnicích. Právě nozokomiální přenos nemoci je jedna z nejčastějších příčin vypuknutí epidemií v rozvojových oblastech. Od roku 1976 bylo zaznamenáno několik epidemií Eboly, ale žádná z nich nebyla rozšířená tak, jako epidemie Eboly (Zaire), která nyní panuje v západní Africe. Tato epidemie vypukla v minulém roce 2014 a doposud (březen 2015) nebyla zastavena. Počet obětí a nakažených lidí této epidemie je svým počtem mnohonásobně větší než součet všech nakažených a obětí zaznamenaných epidemií Eboly v historii. Nejvíce zasaženými zeměmi jsou Libérie, Sierra Leone, Guinea a to z důvodu velmi slabé zdravotní péče, nedostatku školených lidí a špatné infrastruktury (WHO, 2014). Přehled počtu nakažených a obětí je uveden v následující tabulce.

reakce na antigeny v těle, jako jsou bakterie, viry a toxiny. Tělo vytváří různé protilátky proti určitým antigenům. Například protilátka proti planým neštovicím je jiná než protilátka proti mononukleóze (Immune Deficiency Foundation, 2013).

³⁹ Elektronový mikroskop je typ mikroskopu, který využívá paprsek elektronů pro vytvoření obrazu vzorku. Je schopen mnohem většího zvětšení a rozlišení než klasický světelný mikroskop a je schopen zachytit mnohem podrobněji menší objekty (Microscopy).

Tabulka 1: Země se světovým přenosem nemoci

| Země | Případů celkem | Laboratorně potvrzené případy | Úmrtí celkem |
|---------------|----------------|-------------------------------|--------------|
| Guinea | 3459 | 3032 | 2273 |
| Liberia | 9602 | 3151 | 4301 |
| Sierra Leone | 11866 | 8529 | 3764 |
| Celkem | 24927 | 14712 | 10338 |

CDC. 2014 Ebola Outbreak in West Africa - Case Counts [online]. 2015 [cit. 2015-01-16]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/case-counts.html>. (upraveno autorkou v programu WORD)

5. 6. 2. Flaviviry

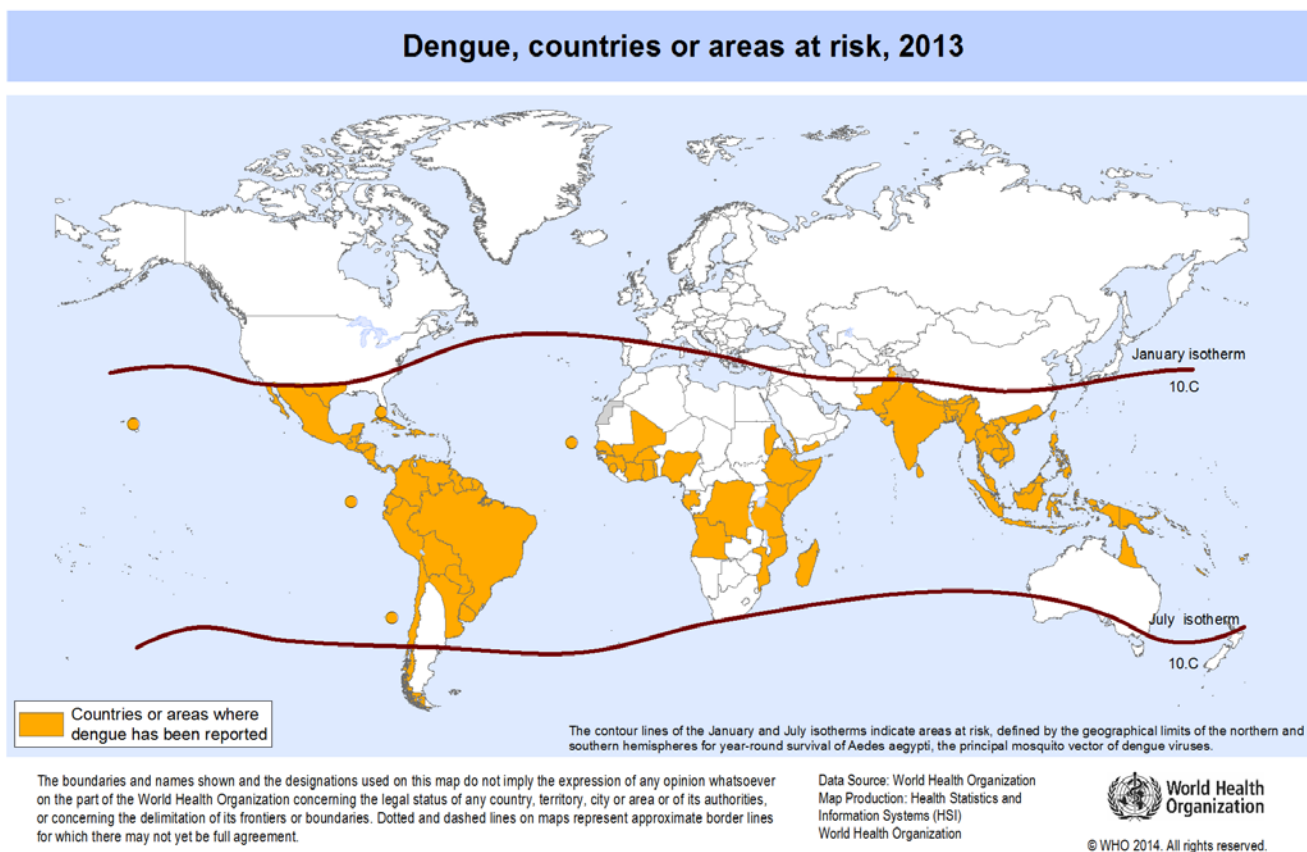
Nejrozšířenější virové hemoragické horečky čeledi viru flaviviridae jsou jednoznačně žlutá zimnice a dengue, proto je jí věnována podstatně větší část této podkapitoly než ostatním HH této čeledi. Výskyt žluté zimnice je zcela odlišný od výskytu této HH v minulých stoletích, kdy byla ohniska nákazy žluté zimnice zaznamenána v Severní Americe a Evropě. I přesto, že je v současnosti dostupná vakcína, která s 99% úspěšností chrání před nákazou žluté zimnice, kvůli chudobě a špatné dostupnosti vakcíny v afrických vesnických oblastech je stále velký počet případů nakažených a úmrtí. Obyvatelé 44 států v západní Africe a v tropické Latinské Americe žijí v endemických oblastí rozšíření žluté zimnice. Což znamená, že asi 900 miliónu lidí hrozí nebezpečí nákazy žlutou zimnicí, z čehož asi 508 miliónů obyvatel 31 států Afriky a zbytek obyvatel 13 států Latinské Ameriky (WHO, 2014a). Podle odhadů WHO (2014a) je od počátku 20. století asi 200 000 případů žluté zimnice, z toho 30 000 úmrtí a 90% z těchto případů se vyskytuje zejména v Africe. Kvůli nedostatku zdrojů a informací z těchto oblastí není většina těchto případů zaznamenána. Poslední větší případ epidemie žluté zimnice byl evidován v r. 2003, kdy v květnu tohoto roku vypukla epidemie žluté zimnice v Jižním Súdánu. Tato epidemie trvala necelé 3 měsíce a bylo ohlášeno 162 nakažených, z nichž 48 zemřelo (CDC, 2011c). Tyto údaje však nejsou zcela

adekvátní, protože bylo mnoho případů nakažených osob, které nebyly oficiálně zaznamenány. (WHO, 2014a)

Hemoragická horečka dengue je světovým problémem od roku 1950. Důvodem je zejména obrovský rozsah výskytu viru dengue. Více jak jedna třetina světové populace žije v oblastech s nebezpečím nákazy HH dengue a zhruba 400 miliónů osob je ročně nakaženo tímto virem (CDC, 2013f). Nachází se zejména v tropických a subtropických oblastech a je hlavní příčinou horečnatých onemocnění mezi cestujícími vracejícími se z Karibiku, Jižní Ameriky a jižní a jihovýchodní Asie. Vážným problémem je to, že míra rozšíření dengue se neustále zvyšuje. Před rokem se s HH dengue potýkalo asi 9 zemí, nyní se dengue vyskytuje ve více než 100 zemích světa⁴⁰. Počet případů nakažených v regionech Severní a Jižní Ameriky, jihovýchodní Asie a západního Pacifiku přesáhl v roce 2008 počet 1 200 000 a v roce 2013 více než 3 milióny (WHO, 2015). V roce 2013 bylo pouze v Americe evidováno 2 350 000 případů dengue, z nichž 37 687 případů byly vážnější formy HH dengue (WHO, 2015). Zeměpisné rozložení dengue je velice podobné rozložení výskytu malárie, nicméně horečka dengue je větším rizikem pro obyvatele městských a obytných oblastí než malárie. (CDC, 2013f)

⁴⁰ Na těchto webových stránkách je možné shlédnout mapu s probíhajícím přenosem horečky dengue: www.healthmap.org/dengue/index.php

Obrázek 1: Mapa zemí či oblastí nebezpečí nákazy dengue



WHO. Dengue, countries or areas at risk, 2013 [obrázek]. International travel and health [online]. 2014 [Cit. 2015-03-22]. Dostupné z: http://gamapservr.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_DengueTransmission_ITHRiskMap.png?ua=1.

*Žlutá barva vyznačuje země či oblasti, kde hrozí nebezpečí nákazy dengue.

Virus horečky Kyasanurského lesa byl objeven roku 1957 ze vzorku krve nemocných opic žijících v Kyasanurském lese ve státě Kamtaka v Indii. Od tohoto roku je průměrně zaevidováno 400 – 500 případů lidských případů (CDC, 2013c). V historii byly případy nakažených zaznamenávány zejména v západní a centrální části, již zmíněného státu Karnataka. Nicméně v listopadu r. 2012 byly pozitivně testovány vzorky krve na KFDV (Kyasanur Forest Disease Virus) také lidí a opic žijících v nejjižnější části tohoto státu. (CDC, 2013c) Omská HH byla objevena v letech 1945 – 1947 v městě Omsk v Rusku u pacientů s krvácivými projevy. Vir Omské horečky se vyskytuje zejména v západní Sibírii v Rusku v regionech Omsk, Novosibirik, Kurgan a Tyumen. (CDC, 2013e)

5. 6. 3. Arenaviry

Všechny hemoragické horečky z rodu arenaviridae se vyskytují v Jižní Americe, výjimkou je HH Lassa a HH Lujo, které se vyskytují v Africe. HH Lassa je z hemoragických horeček z rodu arenaviridae jednoznačně nejrozšířenější a nejvážnější HH a proto je jí věnována podstatnější část. Byla objevena v roce 1967, kdy dvě misijní sestry v Nigérii na tuto nemoc zemřely. (Ftika, 2012) Tato nemoc se vyskytuje hlavně v západní Africe ve státech Sierra Leone, Guinea, Nigérie a Libérie. Avšak sousedící státy jsou také v ohrožení, protože jsou regionem výskytu hlodavce, který je hlavním přenašečem Lassa horečky. V roce 2009 byl zaznamenán první případ ze státu Mali, kdy byl nakažený cestovatel žijící na jihu této země. Koncem roku 2011 byl hlášen případ v Ghaně. Další ojedinělé případy byly hlášeny také v Pobřeží slonoviny a Burkině Faso a sérologické důkazy Lassa viru byly nalezeny v i Togu a Beninu. (CDC, 2014c) Počet případů nakažených virem Lassa v západní Africe se ročně odhaduje na 100 000 až 300 000, kdy přibližně 5000 případů končí úmrtím (CDC, 2014c). Tyto údaje nejsou však zcela přesné, protože podobně jako u žluté zimnice nejsou oficiálně zaevidovány všechny případy nakažených. Virus Junin způsobující Argentinskou HH byl objeven v roce 1958 a vyskytuje se v určitých zemědělských oblastech Argentinských pamp. O několik let později r. 1963 byl objeven v provincii Beni v Bolívii virus Machupo. Mezi nejmladší viry, které byly objeveny v posledních třiceti letech, patří vir Guanarito objevený ve Venezuele v roce 1989, Sabia v Brazílii v roce 1993, Chapare v Bolívii v roce 2004 a Lujo v Jižní Africe v roce 2008 (CDC, 2013).

5. 6. 4. Bunyaviry

Viry čeledi bunyviridae jsou v místě výskytu na rozdíl od virů čeledi arenaviridae o něco rozmanitější. Jako první byla objevena HH Rift Valley (RVF) na začátku 20. století u hospodářských zvířat v Keni v oblasti údolí Rift Valley. RVF se nejvíce vyskytuje v oblastech východní a jižní Afriky, kde se nejvíce chová dobytek, jakou jsou ovce a skot. Nicméně vyskytuje se v celé Subsaharské Africe včetně západní Afriky a Madagaskaru. V září roku 2000 se HH Rift Valley vyskytla také v Saúdské Arábii a Jemenu, což bylo vůbec poprvé, kdy se RVF vyskytla mimo Afriku. (CDC, 2013f)

Další hemoragická horečka Krymsko-konžská (CCHF) byla podle CDC (2013h) poprvé objevena na Krymském poloostrově v roce 1944, když vypukla epidemie krvácivé horečky mezi zemědělskými dělníky a později v roce 1956 byl stejný vir objeven u jednoho pacienta v současné Demokratické republice Kongo. V současnosti se CCHF vyskytuje ve

východní Evropě a to zejména v bývalém Sovětském svazu, ve Středomoří, v severozápadní Číně, střední Asii, jižní Evropě, Africe, na Blízkém východě a indickém subkontinentu.

Hemoragická horečka s renálním syndromem⁴¹ (HFRS) se vyskytuje téměř na celé zemi. Často se vyskytuje ve východní Asii a to zejména v Číně, dále v Rusku, Koreji, Skandinávii, Evropě a na Balkáně. Virus hantaan se také vykytuje na území Severní a Jižní Ameriky, ale způsobuje jinou chorobu zvanou hantavirový plicní syndrom⁴² (HPS), která již nepatří mezi hemoragické horečky. (CDC, 2011)

Pro stručný přehled kapitoly o hemoragických horečkách, uvádím následující tabulku.

Tabulka 2: Přehled, výskyt a etiologie⁴³ VHH

| Čeleď | Druh | Onemocnění | Rezervoár | Vektor | Výskyt |
|---------------------|----------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------------|---|
| <i>Flaviviridae</i> | virus Omské HH | Omská HH | Hlodavci | klíště | střední Asie |
| | virus horečky Kyasanurského lesa | Horečka Kyasanurského lesa | hlodavci, netopýři, primáti | klíště | Indie |
| | virus žluté zimnice | žlutá zimnice | primáti, člověk | komár Aedes | tropy Afriky a Jižní Ameriky |
| | virus dengue | hemoragická horečka dengue | člověk, primáti | komár Aedes | tropy Afriky, Asie, Ameriky, Pacifická oblast |
| <i>Filoviridae</i> | virus Ebola | horečka Ebola | Neznámý | neznámý | Afrika, Západní Pacifik |
| | virus Marburg | Marburská nemoc | Neznámý | neznámý | Afrika |
| <i>Arenaviridae</i> | virus Lassa | horečka Lassa | Hlodavci | hlodavci | Afrika |
| | virus Machupo | Bolivijská | Hlodavci | hlodavci | J. Amerika |
| | virus Junin | Argentinská HH | Hlodavci | hlodavci | J. Amerika |
| | virus Guaranito | Venezuelská HH | Hlodavci | hlodavci | J. Amerika |

⁴¹ Hemoragická horečka s renálním syndromem je závažné onemocnění vyvolané viry z rodu *Hantavirus*. Projevuje se vysokou horečkou, myalgiemi, bolestmi hlavy a akutním selháním ledvin. Komplikací může být krvácení vč. hemoragie do CNS. Nemoc je provázena značně vysokou úmrtností, po překonání renálního selhání je možné postupné uzdravení. (Vokurka, 2009)

⁴² Hantavirový plicní syndrom je vážné někdy i smrtelné onemocnění plic, způsobené virem hantaan. (Interní medicína pro praxi, 2003)

⁴³ Etiologie znamená původ onemocnění.

| | | | | | |
|---------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------|----------|--|
| | virus Sabia | Brazilská HH | Hlodavci | hlodavci | J. Amerika |
| | Virus Chapare | Hemoragická horečka Chapare | Hlodavci | hlodavci | J. Amerika |
| | virus Lujo | Hemoragická horečka Lujo | Hlodavci | hlodavci | jižní Afrika |
| <i>Bunyaviridae</i> | virus Krymsko-konžské HH | Krymsko-konžská HH | savci, ptáci | klíště | Afrika, východní Evropa, střední Asie, Oblast středomoří |
| | virus horečky Rift Valley | horečka Rift Valley | přežvýkavci, hlodavci | komár | Afrika, Blízký Východ |
| | virus Hantaan | HH s renálním syndromem | Hlodavci | hlodavci | Asie, afrika, Balkán |

MACHALA, Virové hemoragické horečky [online], 2009 11(5) [cit. 2014-02-27]. Dostupné z: <http://www.internimedica.cz/artkey/int-200905-0004.php>. (upraveno autorkou v programu WORD)

6. Biologické zbraně

6. 1. Obecná charakteristika

Biologické zbraně (BW) jsou zbraně hromadného ničení podobně jako zbraně nukleární⁴⁴ a chemické⁴⁵, avšak na rozdíl od nich se skládají z tzv. biologického agens, což jsou v tomto případě patogeny, které se dělí na patogeny –virové, bakteriální a toxiny. Tyto mikroorganismy způsobující vážné choroby a v nejhorších případech i smrt, mohou napadnout lidi, zvěř a rostliny. Pohanka (2010) však uvádí, že biologický agens není sám o sobě biologickou zbraní, ale musí být zakomponován do nějakého mechanismu, který je schopen biologický agens rozšířit, z čehož vyplývá, že například zkumavka s tekutinou

⁴⁴ Nukleární zbraně jsou nejnebezpečnější zbraně na zemi. Jedna taková zbraň může zničit nejen celé město, ale i celý stát a potencionálně zabít milióny lidí, ohrozit životní prostředí a hlavně životy budoucích generací svými dlouhodobými katastrofálními dopady (UNODA).

⁴⁵ Chemické zbraně jsou toxické chemické látky obsažené v nějakém dávkovacím zařízení, jako je například bomba, které mohou způsobit smrt, úraz, dočasnou fyzickou neschopnost, nebo napadení smyslů díky chemickému působení (OPCW).

obsahující vir Eboly není biologická zbraň, ale pokud by byla tekutina s virem v klasickém rozprašovači, byla by již za BW považována. Biologické zbraně mohou být konstruovány v podobě granátů, raket, bomb, ale i v podobě jednoduchých zařízení jakou jsou práškovací nebo rozprašovací zařízení.

Jako další význam a velkou výhodou biologických zbraní ve své knize Spiers (2010) uvádí jejich schopnost rozšířit biologické látky vzduchem na velkou plochu pomocí převládajícího větru, čímž jsou schopny za vhodných povětrnostních podmínek proniknout do jakéhokoliv prostoru, kde cirkuluje vzduch a mohou kontaminovat celý objekt, oblečení, jídlo, vodu, různé předměty apod. Na druhou stranu Spiers (2010) udává jako negativum fakt, že většina biologických agens začíná působit až po uplynutí inkubační doby a působí na své oběti delší dobu. Dále jako slabinu biologických zbraní uvádí to, že se lidé mohou před biologickými zbraněmi chránit ochranným oblečením a velkou citlivost biologických agens na sluneční záření, teplotu a jiné přírodní faktory, které mohou vážně poškodit jejich životaschopnost a virulenci⁴⁶. Mezi důležité vlastnosti některých patogenů s ohledem na použití jako biologické zbraně, patří možnost přenosu z člověka na člověka – například některé typy VHH, nebo být přenášeny migrujícími ptáky a zvěří do vzdálenějších lokalit. Dále že ke kontaminování podstatně velkého území stačí malé množství biologického agens, pro představu jako příklad uvádím část textu z příručky NATO (1996): „ *Náklady na zničení 50 % živé síly na území jeden kilometr čtverečný pro konvenční zbraně jsou \$2000, \$800 pro nukleární, \$600 pro chemické a \$1 pro zbraně biologické. To znamená například, že celkově je pak třeba doručit na místo účinku cca 500 kg chemické zbraně ve srovnání s 1 kg zbraně biologické.*“ Díky velice malému množství materiálu potřebnému k implementaci biologické zbraně je zároveň velmi jednoduché jejich skrytí, transport a následné využití k sabotáži, zavraždění či bioteroristickému útoku. (Spiers, 2010)

Podle NATO (1996) je také důležitá účinnost biologické zbraně. Pro to, aby byla biologická zbraň účinná, je důležitý způsob vniknutí infekčního agens do organismu. Nejčastěji biologický agens vniká do organismu v podobě aerosolů a to vdechnutím, další způsoby vniknutí do těla nejsou tak časté a důležité jako inhalace, což ale neznamená, že nejsou potenciaálně významné. Při inhalaci aerosolů biologických agens dochází k ukládání infekčních či toxických částic na povrchu plicních sklípků (alveol), což jim umožňuje přímou cestu do krevního oběhu. Tyto částice jsou velké 0,5 mikronů⁴⁷ až 5 mikronů, pokud jsou částice větší, jsou zadrženy v horních cestách dýchacích, které mohou infikovat. Pokud jsou

⁴⁶ Virulence je schopnost mikroorganismu nakazit či infikovat. (Spiers, 2010)

⁴⁷ Mikron (μ) je jednotka délky a je to 1/1000000 metru také mikrometr (Metric Conversions).

však částice menší než 0,5 mikronů nejsou již u lidí efektivní. Další možnost je požití vody či potravin kontaminovaných při aerosolovém útoku. K vážnému onemocnění může dojít při nekontrolovaném a opakovaném požití tak kontaminované vody či potravy. Poslední možností vniknutí aerosolů agens do těla je tzv. perkutánní vniknutí (vniknutí kůží). Kůže je dostatečně silná a je přirozenou bariérou pro vniknutí aerosolů, nicméně některé části jako sliznice, spojivky či poranění kůže jsou snadnou cestou aerosolů do lidského těla. (NATO, 1996)

K rozšíření může také dojít při přímé kontaminaci spotřebního materiálu jako je pitná voda, potraviny a léky. Tento způsob je nejvhodnějším způsobem pro sabotáž, či útok na určitou skupinu, jako např. otrávení dodávek pitné vody nebo potravin vojenské základny. Jsou i další možnosti jako záměrné množení vektorů přenášejících choroby (komáři, klíšťata, hlodavci,...), dlouhodobé ukládání biologických agens a tím infikování prachových částic a neposledně šíření nemoci člověkem, který se může snadno stát velmi účinným zdrojem šíření choroby (např. mor a neštovice). (NATO, 1996)

Následující obrázek představuje mezinárodní symbol biologického rizika a musí být například vystaven na dveřích laboratoře s druhým a vyšším stupněm zabezpečením (BSL-2 až BSL-4).

Obrázek 2: Symbol biologického rizika



WHO. Biohazard warning sign for laboratory doors [obrázek]. Laboratory Biosafety Manual [online]. WHO, 2004. s. 10, [Cit. 2015-03-04]. Vyd. 3. ISBN 92 4 154650 6. Dostupné z: <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf?ua=1>.

6. 2. Detekce biologických agens

Otázkou je také detekce a identifikace biologických agens. Je široká škála možností jak detekovat a identifikovat biologické agens. K tomu, abychom mohli detekci vůbec provést, je důležité správné odebrání biologického agens z okolního prostředí. Analýzu kontaminantů povrchů lze provést stěrem a z kapaliny odebráním vzorku, k složitější situaci dochází při odebrání vzorků z ovzduší při sběru biologického aerosolu. Ve svém článku Sapsford (2008) uvádí několik nejčastějších způsobů detekce biologických agens-biosenzory pracující za použití protilátek (imunologické metody), genomové analýzy, způsob založený na buněčné odpovědi a biochemická vyšetření. Nicméně nejvýznamnější způsob detekce s ohledem na rozpoznání virových hemoragických horeček, jsou biosenzory za použití protilátek a genomová analýza a proto jsou ostatní typy detekce jen obecně charakterizovány pro porozumění čtenáře a je jim věnována podstatně menší část této podkapitoly.

6. 2. 1. Biosenzory za použití protilátek

Za nejvíce používané Sapsford (2008) považuje biosenzory pracující na principu použití protilátek, již zmíněné imunologické metody jako je ELISA, elektrochemiluminescence (ECL) a Time-Resolved Fluorescence (TRF). Na tomto principu, jak již bylo výše uvedeno, funguje většina případných detekcí virových hemoragických horeček. The Naval Research laboratory je jedna z nejdůležitějších platform zabývajících se detekcí biologických agens, vyvinula biosenzor zvaný RAPTOR, který je schopný provádět tzv. multiplexování, což znamená, že je schopen analyzovat více vzorků najednou, v tomto případě se jedná o 4 vzorky. Pohanka 2010 i Sapsford (2008) uvádí další známý biosenzor – systém Bio-Detection využíváný armádou USA v mobilních laboratořích, které je schopné detekovat osm biologických agens najednou v čase 15 minut.

6. 2. 2. Genomová analýza

Jako další nejčastější metodu Sapsford (2008) uvádí tzv. genomovou analýzu. Všechny organismy mohou být rozpoznány podle jejich genomů (zjednodušeně podle jejich DNA). U genomové analýzy při diferenciaci patogenů obecně platí dvě základní analytické strategie: amplifikace specifických patogenů fragmenty nukleové kyseliny a detekce specifického genu nebo unikátní sekvence pomocí hybridizace se sondou komplementární

nukleové kyseliny⁴⁸ Kohoutková (Kohoutková, 2012). Nejčastějším technologickým postupem pro určování přítomnosti / nepřítomnosti patogenů specifické nukleové kyseliny je polymerázová řetězová reakce (PCR), která je již uvedena jako jedna z častých metod používaná pro diagnostiku virových hemoragických horeček. Šmarda (2005) uvádí jako nejrozšířenější test pro rychlou detekci individuálního specifického patogenu genu kvantitativní PCR (qPCR), který umožňuje kvantifikovat cílové geny v reálném čase. Kvantitativní PCR se provádí v rozmezí 30 minut až 1 hodiny a může být použita i při tzv. reverzní transkriptáze PCR⁴⁹, což umožňuje současnou detekci a kvantifikaci genové exprese⁵⁰. Sapsford (2008) dále dodává, že technologie a systémy založené na principu PCR nejsou schopni detekci pouze jednoho genu. Vzorek může být testován na přítomnost mnoha genů, což je základem pro novější metody pro detekci a typizaci bakteriálních či virových patogenů ve vodě, potravinách, v celém životním prostředí a klinických vzorcích (krev, moč, výtěry z úst apod.). PCR je také prováděno na bázi tzv. *biodetection* pro ochranu veřejného zdraví, což je program nazývaný BioWatch⁵¹.

6. 2. 3. Microarray techniky

Další metodou jsou tzv. microarray techniky, který slouží k identifikaci patogenu, která je založená na jeho sekvenci. I když je tato technika zařazována mezi biosenzory, zásadně významnější je díky své schopnosti do detailů identifikovat zachycený mikroorganismus a velmi přesně určit jeho taxonomii⁵². Technika Microarray byla vytvořena pro identifikaci patogenů bakteriálních, virových a houbových agens. Pohanka (2010)

6. 2. 4. SELEX

Předešlé metody detekce biologických agens jsou jednoznačně považované za ty nejvýznamnější, avšak jsou i další metody, které v tomto ohledu zaujímají svou určitou roli.

⁴⁸Zjednodušeně těmito dvěma procesy, které probíhají většinou současně, dochází k analýze nukleových kyselin, čímž je možné zmapovat strukturu genu a tím analyzovat DNA (Kohoutková, 2012).

⁴⁹ RT-PCR se používá, pokud je potřeba namísto DNA amplifikovat mRNA-messengerová RNA (Šmarda, 2005).

⁵⁰ Genová exprese je proces, kterým je v genu uložená informace převedena v reálně existující buněčnou strukturu nebo funkci (Vokurka, 2009).

⁵¹ Biowatch je program zahrnující biologický monitorovací systém, který byl od r. 2001 nasazen v klíčových městech států a spočívá ve sběru aerosolů metropolitních oblastí. Vzorky z monitorovacích stanic jsou poté dodávány do laboratoře pro analýzu PCR. (Garza, 2012)

⁵² „Taxonomie je klasifikace organismů, tj. řazení do skupin taxonů podle příbuznosti. Tyto skupiny tvoří hierarchický systém. Příkladem může být taxonomické zařazení člověka kmen – strunatci Chordata, podkmen – obratlovci Vertebrata, třída – savci Mammalia, ...“ (Vokurka, 2009)

Další metoda se nazývá Systematický vývoj ligandů⁵³ exponenciálním obohacováním (SELEX). Tato metoda se zaměřuje na vývoj aptamerů⁵⁴, které jsou široce využívány a to v lékařském a farmaceutickém základním výzkum. Pro nás je však důležitý jejich význam v rámci detekce biologických agens, kdy jsou využívány analytickými a separačními nástroji pro molekulární rozpoznávání a vázání prvků. (Solterburg, 2007)

6. 2. 5. Buněčná odpověď

Další metoda je založena na buněčné odpovědi a lze ji rozdělit do dvou skupin. U první lze použít buňky, které vlastní buněčné fyziologické procesy pro detekci, či vlastní „senzor“ na bázi buňky. U druhé skupiny se jedná o buňky, které byly geneticky upraveny, nebo do kterých byly snímací materiály zavedeny (na bázi buněk). Asi nejvýznamnější systém využívající metodu buněčné odpovědi je tzv. CANARY systém, který je schopný detekovat nebezpečný biologický agens během několika minut. Tato technologie je zařazena mezi snímače detekující biologický aerosol. Většinou je to volně stojící senzor na veřejných místech, který slouží jako ochrana budov, jako ochrana při mimořádných akcích a k rychlému ověřování a monitorování životního prostředí. (Sapsford, 2008)

6. 2. 6. Biochemická vyšetření

Jako poslední uvádí Sapsford (2008) tzv. biochemická vyšetření. Základní biochemické a fyzikální testy nejsou již tak specifické, jako předešlé metody, což ale neznamená, že bychom jejich potenciál měli ignorovat. Například mikroskopické vyšetření podezřelého materiálu může být velice užitečné, protože umožňuje vizualizaci bakterií či bakteriálních spor⁵⁵. Mohou být využity i biochemické testy, jako je například kataláza⁵⁶, ureáza⁵⁷, či tzv. laktamáza⁵⁸ enzymové aktivity, které neslouží přímo k absolutní identifikaci biologických agens, ale mohou jistá biologická agens vyloučit.

⁵³ Ligand je atom, iont nebo molekula, která poskytuje jeden nebo více elektronových párů centrálnímu atomu (Jursík, 2002).

⁵⁴ Aptamery jsou krátké oligonukleotidy (RNA nebo DNA) nebo peptidy, které jsou schopné zcela specifické vazby k cílové molekule. Oligonukleotid jsou dva a více nukleotidů (stavební kameny nukleových kyselin) spojené specifickou chemickou vazbou (Vokurka, 2009).

⁵⁵ Bakteriální spora je klidová fáze bakterie (Vokurka, 2009).

⁵⁶ Kataláza (též katalasa) je běžný enzym vyskytující se téměř ve všech živých organismech vystavených kyslíku. Funguje jako katalyzátor rozkladu peroxidu vodíku na vodu a kyslík. (Vokurka, 2009)

⁵⁷ Ureáza je enzym, který katalyzuje hydrolýzu močoviny na oxid uhličitý a amoniak (Zambelli, 2011).

⁵⁸ Laktamáza je enzym produkovaný některými bakteriemi a zodpovědný za jejich rezistenci na beta-laktamová antibiotika, například peniciliny, cefamyciny a karbapenemy (Vokurka, 2009).

Všechny zmíněné metody jsou vcelku finančně náročné a proto právě v rozvojových zemích, kde je největší riziko nakažení virem většiny virových hemoragických horeček, jsou tyto metody či technologie detekce těžce dostupné. Nicméně technologie snímání biologických agens se neustále vyvíjí a můžeme doufat a předpokládat, že v budoucnu budou i jiná účinná zařízení, která budou lehce dostupná i v rozvojových zemích.

6.3. Rozdělení biologických agens

Existuje více než 1200 lidských patogenů, které by teoreticky mohly být použity pro konstrukci biologické zbraně, ale pouze hrstka z nich má ideální vlastnosti pro použití jako biologické zbraně (Hooker, 2014). Pro přehled některých biologických agens nyní uvedu jejich dělení podle CDC (2015) na kategorie A, B, C:

- A) V této kategorii jsou patogeny, které se snadno šíří a mohou být snadno přenášeny z člověka na člověka. Snadno se kultivují, způsobují vysokou úmrtnost a mohou vážně ovlivnit zdraví člověka. Svými následky mohou nejen fyzicky, ale i psychicky poškodit stav obyvatelstva jisté lokality a tím vyvolat paniku. Po použití těchto organismů jsou potřebná speciální opatření pro ochranu veřejného zdraví a jejich zamezení, což však ne vždy musí být účinné. Do této kategorie patří: *anthrax (Bacillus anthracis)*, botulotoxin (*Clostridium botulinum toxin*), mor (*Yersinia pestis*), neštovice (*Variola major*), tularémie (*Francisella tularensis*) a virové hemoragické horečky (*filoviry-Ebola, Marburg, Arenaviry-Lassa, Machupo*).
- B) Do této kategorie spadají organismy, které již nemají takovou schopnost šířit se jako organismy kategorie A. Nižší míra úmrtnosti než u kategorie A, stále jsou při jejich použití potřebná speciální opatření. Pro jejich zamezení musí být stále použita důležitá protiepidemická opatření. Do této kategorie patří: Brucelóza (druhy *Brucella*), toxin *Epsilon* z *Colstridium perfringens*, bezpečnostní hrozba potravin (*Salmonella, Escherichia coli O157 : H7, Shigella*), vozňivka (*Burkholderia mallei*), melioidóza (*Burkholderia pseudomallei*), psitakóza (*Chlamydia psittaci*), Q horečka (*Coxiella burnetii*), Ricin toxin z *Ricinus communis (Castor fazole)*, Stafylokový enterotoxin B, Tyfus horečka (*Rickettsia prowazekii*), Virové encefalitidy (*alfaviry*-např. venezuelské koňské encefalitidy, východní koňské encefalitidy a západní koňská encefalitidy), bezpečnostní hrozba vody (*Vibrio cholerae-Cholera, Cryptosporidium parvum*).

C) Do této kategorie jsou zařazeny biologická agens, která nejsou v současnosti hrozbou. Jsou to vznikající a současně se vyvíjející patogeny a mohly by být potenciálně využity v budoucnosti. Jejich výroba a šíření je snadné a potenciálně mohou způsobit vysokou mortalitu a vážně ovlivnit zdraví. Do této kategorie například spadají viry *Nipah* a *Hantavirus*, ptačí chřipka, tuberkulóza a priony.

V následující tabulce stručně charakterizují biologická agens, která jsou nejvýznamnější s ohledem na použití jako biologické zbraně. Také uvedu typy primární identifikace jednotlivých agens a jejich zařazení v rámci BSL (biosafety level, stupeň zabezpečení).

Tabulka 3 : Biologické agens

| Biologické agens | Charakteristika | Kategorie podle CDC / BSL* | Primární identifikace** |
|---|---|----------------------------|-------------------------|
| Toxiny malé molekulární hmotnosti: Mykotoxiny | Různorodá skupina organických sloučenin produkovaná mikroskopickými vláknitými houbami (plísní) například <i>Aspergillus</i> , která produkuje tzv. Aflatoxin, můžeme nalézt v ořechách a obilovinách. Mohou kontaminovat široké spektrum potravin a krmiv. | – | MS / IA |
| Saxitoxiny | Jeden z nejtoxičtějších neurotoxinů ¹ . Jsou produkovány velkým počtem druhů mořských řas. Byly objeveny také u organismů, jako jsou mořské obrněnky, muňky a modroprstencové chobotnice. | – | MS / IA |
| Proteinové toxiny: Ricin | Extrémně toxický glykoprotein ¹ , který je získáván z rostliny skočce obecného (<i>Ricinus communis</i>). Je velmi toxický při vdechnutí. | B | IA |

| | | | |
|---|---|----------|--------------|
| Toxin Cholery | Produkován bakterií <i>Vibrio Cholerae</i> , která se obvykle vyskytuje ve vodě nebo potravinách, které jsou pak kontaminované fekáliemi. Zdrojem šíření nemoci v lidské společnosti je pak člověk v akutní fázi onemocnění. | B | IA / MB |
| Botulotoxin | Jeden z mnoha účinných neurotoxinů produkovaných bakterií <i>Clostridium botulinum</i> . Nejvíce toxický známý proteinový toxin. Bakterie a ani jimi produkované neurotoxiny neztrácejí svou aktivitu v kyselém prostředí, spory přežívají i několikahodinový var. Možná vakcinace. Používá se v minutových dávkách k léčbě bolestivých svalových křečí a jako kosmetické ošetření. | A / 2 –3 | MB |
| Bakterie: <i>Bacillus anthracis</i> | Původce velmi nebezpečného onemocnění antraxu. Je to zoonotické onemocnění vyskytující se v přírodě hlavně u divokých zvířat a také u domestikovaných zvířat. Má tři formy: kožní, pozření kontaminované potravy a inhalační, která vykazuje vysokou úmrtnost blížící se k 100 %. | A / 2 –3 | IA / MB / BA |
| <i>Yersinia pestis</i> | Způsobuje vážné onemocnění mor. Zoonóza, která je přenášena ze zvířete na člověka blechou. Nemoc se může projevit v bubonické ¹ , septické, kožní nebo plicní formě. Ve 14. století vyhubil mor asi polovinu evropské populace. | A | IA / MB / BA |
| <i>Francisella tularensis</i> | Způsobuje vážné onemocnění Tularemii známou také jako „králičí horečka“. Přenášen přímým kontaktem s nakaženými zvířaty, jako jsou hlodavci, zajáci, králíci nebo přenášen vektory-klíště, savý hmyz. V bioterorismu je používán | A / 2 –3 | IA / MB / BA |

| | | | |
|--|---|------------------------|--------------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> 0157 : H7, <i>Shigella</i> | v podobě aerosolů. Spolu s řadou jiných bakterií jako je například <i>Salmonella spp.</i> , jsou potravinové patogeny, které se vyznačují vysokou morbiditou a mohou být šířeny prostřednictvím zásobování potravy. | B | IA / MB / BA |
| Viry: Viry hemoragických horeček Pravé neštovice Q horečka | Viz. kapitola o VHH. Orthopixvirus variola je virus, který způsobuje toto velice nakažlivé onemocnění přímým kontaktem. Tato nemoc je unikátní u člověka a ve 20. století způsobila smrt 300-400 miliónu lidí. V r. 1977 byla eradikována (vymýcena). „Chřipka“, vysoce nakažlivé onemocnění dýchacích cest a to zejména u malých dětí, či lidí s oslabenou imunitou. | A/ 4 A B | IA /BA IA / BA IA / BA |
| Další patogenní organismy: Parazitičtí prvoci | Spadají sem například <i>Gardia lamblia</i> a <i>Cryptosporidium parvum</i> , které jsou šířeny zejména prostřednictvím kontaminované vody či potravy a mohou způsobit vážně střevní problémy. | B | IA / MB / BA |
| Současně vznikající bio-hrozby: MTB (tuberkulóza, TB) | Multirezistentní tuberkulóza je plicní onemocnění způsobené bakterií <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Toto onemocnění se šíří snadno z člověka na člověka. | C | IA / MB / BA |

| | | | |
|---------------|---|---|---------|
| Priony | Jsou infekční částice tvořené pouze molekulou bílkoviny a původci neurodegenerativních onemocnění ¹ lidí a zvířat. | C | IA |
| Ptačí chřipka | Objevené a šířené mezi ptáky. Hlavní hrozbou je možné pandemické rozšíření tohoto agens. | C | IA / BA |

SAPSFORD, Kim E. Sensors for detecting biological agents. *Materials Today* [online]. 2008, vyd. 11, č. 3, s. 38-49 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.1016/S1369-7021(08)70018-X. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136970210870018X>. (upraveno autorkou v programu WORD)

* BSL (biosafety level, stupeň zabezpečení) 4 stupně zabezpečení laboratoří, kde se manipuluje s biologickými agens: 1) minimální potenciální nebezpečí, většinou výukové a jiné laboratoře pracující s kmeny, které nejsou původci nemoci; 2) mírné potenciální nebezpečí, práce s mikroorganismy, které se běžně vyskytují v životním prostředí a jsou virulentní pouze vůči určitým oslabeným jedincům; 3) vážná nebo potenciálně smrtelná nemoc, laboratoře předpokládají práci s patogeny šířícími se aerosolem; 4) vysoké individuální riziko laboratorního infekčního onemocnění, které je přenášeno v podobě aerosolových částic a může způsobit vážnou neléčitelnou nemoc nebo nemoc s vysokou mírou úmrtnosti. (Choosewood, 2009)

**MS = hmotnostní spektrometrie⁵⁹; IA= test imunologické odpovědi (protilátky); BA = biologické testování jako je PCR (přítomnost specifických genů)

6. 4. Historie biologických zbraní

Pro uvědomění si potenciálu různých chorob, jako jsou i virové hemoragické horečky, pro použití biologické zbraně, uvádím následující kapitolu, která se týká přehledu zneužití biologických agens v minulosti. Biologické zbraně nejsou záležitostí pouze novodobých dějin, ale naopak zasahují až do dob před Kristem. Příkladem je perská, řecká a římská literatura, která uvádí záznamy z doby asi 300 let př.nl., kdy byla uhynulá zvěř využívána ke kontaminaci studen nebo jiných zdrojů vod, do kterých byla házena. Během bitvy o italské město Tortona ve 12. století římský král Barbarossa použil rozkládající se těla mrtvých vojáků k otrávení studen. O jedno století později v r. 1347 tatarská vojska při dobývání přístavu

⁵⁹ Hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry – MS) je analytická technika, která zkoumá převážně organické látky. Je využívána při kvantitativní a kvalitativní analýze. Při kvalitativní analýze organických látek je pomocí MS nejčastěji stanovována jejich molekulová hmotnost nebo objasňována jejich struktura. (Adrey, 2003)

Kaffa na území dnešní Ukrajiny vrhali infikovaná těla morem přes hradby města. V roce 1710, kdy Rusové bojovali se Švédskem, Rusové použili stejnou strategii pro dobytí města Reval v Estonsku. V 18. století britské síly pod vedením sira Jeffreyho Amhersta rozdávaly indiánským americkým domorodcům kontaminované přikrývky a šátky, kterými byly zakrývané oběti pravých neštovic, ve snaze rozšířit nákazu. (Hooker, 2014)

Způsob použití biologických zbraní byl na konci 19. stol. a začátku 20. století podmíněn vědeckými a technickými pokroky. Během 1. světové války byl německou armádou vyvinut antrax, cholera a vozohřivka⁶⁰. Ta následně údajně rozšířila mor v Petrohradu v Rusku, nakazila vozohřivkou muly⁶¹ v Mezopotámii a o to samé se pokoušela u koňů francouzské kavalérie. O tom, zda byly tyto biologické agens a jiné biologické zbraně během 1. Světové války opravdu použity, se dodnes diskutuje (Christopher et al., 1997). Nicméně v r. 1925 108 států podepsalo Ženevský protokol o zákazu použití chemických zbraní a bakteriologických způsobů vedení války, který vstoupil v platnost roku 1928. Protokol však nebyl podepsán všemi významnými mocnostmi a neřešil vlastnictví uvedených zbraní, ale pouze je zakazoval použít k nevyprovokovanému útoku. (Pohanka, 2010; Hooker, 2014) Během 2. Světové války Japonsko provádělo tajný výzkumný program biologických zbraní. Takzvaná Jednotka 731 prováděla na území okupované Číny Mandžuska doslova nehumánní pokusy na uvězněných místních obyvatelích. Více než 3000 obětí bylo vystaveno například látkám jako antrax, mor, syfilis⁶² pro vyvinutí onemocnění a následnému pozorování průběhu nemoci. Některé oběti byly poté popraveny nebo zemřely příčinou onemocnění. Podle Konvalinku (2013) příčinou těchto pokusů Jednotky 731 zemřelo až 10 000 lidí. *„Dva čelní pracovníci této jednotky byli po druhé světové válce zatčeni vojáky USA a omilostněni pod podmínkou účasti na americkém zbrojním programu. Velká část výzkumných zpráv a vědeckých pracovníků Jednotky 731 byla získána Sovětským svazem a použita pro jejich vlastní zbrojní program.“* (Pohanka, 2010) V roce 1942 USA založily výzkumný program WRS (War Research Service), kde byl zkoumán antrax a botulotoxin pro využití jako biologické zbraně a do roku 1944, kdy byl tento výzkum zrušen, byly uschovávány velké zásoby těchto látek v případě útoku ze strany Německa (Spiers, 2010). V období studené války mezi USA a SSSR docházelo k neustálému zbrojení těchto velmocí. Ve 40. letech vznikla v USA také významná výzkumná instituce Camp Detrick (dnes Fort Detrick), kde se snažili konstruovat biologické

⁶⁰ Vozohřivka je vysoce nakažlivé bakteriální onemocnění lichokopytníků, které může být přeneseno i na člověka. Postihuje většinou nejprve plíce, v pozdějším stadiu pak sliznice nosu a kůže. (Pospíšil, 2001)

⁶¹ Mul je kříženec samce osla a samice koně (kobyly).

⁶² Je systémové infekční onemocnění s charakteristickým průběhem střídání příznakového a bezpříznakového období. Nejčastěji přenos tohoto onemocnění probíhá pohlavním stykem a extrémně vzácně kontaminovanými předměty, či průnikem přes placentu a následně infikování plodu. (Dostál, 2005)

zbraně. V tomto místě sídlí instituce zabývající se ochranou před zbraněmi hromadného ničení dodnes. V USA bylo také zbrojní zařízení v Pine Bluff a v roce 1953 byla založena instituce zabývající se ochranou před infekčními riziky USAMRIID (*US Army Medical Research Institute for Infectious Diseases*). (Pohanka, 2010) Podle Konvalinky (2013) byla nejvýznamnějším zařízením SSSR na výrobu biologických zbraní pravděpodobně laboratoř Vektor v sibiřském městě Kolcovo, kde od sedmdesátých let minulého století probíhal vývoj geneticky modifikovaných virů, které byly kombinací více smrtelných agens a výrobní zařízení ve Sverdlovsku, kde v r. 1979 došlo k nehodě a úniku aerosolu látky antrax a způsobilo vážné infekce u zasahujících jednotek a civilního obyvatelstva a způsobilo smrt 66 lidí. Celkově bylo v Sovětském svazu asi 18 továren, které se zabývaly výrobou biologických zbraní. Díky mírnějšímu napětí mezi těmito dvěma velmocemi byla 10. dubna 1972 podepsána mezinárodní dohoda o biologických zbraních BWC (*The Biological Weapons Convention*), což byla první mnohostranná smlouva odzbrojení zakazující vývoj, výrobu a skladování všech kategorií zbraní hromadného ničení. V platnost tato úmluva vstoupila 26. března 1975. (UNODA, 2015) Většina zemí západního světa dohodu splnila, avšak SSSR, až do svého rozpadu, v utajení pokračoval ve zbrojních aktivitách. (Konvalinka, 2013)

Od 80. let se zbrojní programy biologických zbraní dostávají do popředí zájmu v rámci méně významných států a menších militantních či teroristických skupin. V roce 1985 založil Irák ofenzivní program výroby biologických zbraní se zaměřením produkce na antrax, botulotoxin a aflatoxin. Během války v Perském zálivu při operaci zvané „Pouštní bouře“ musela koalice spojeneckých vojsk (letectvo USA, Saudská Arábie, Kuvajt) čelit hrozbě biologických a chemických látek. Po válce v Perském zálivu přiznal Irák, že využíval bomby, rakety Scud⁶³ a rakety 122mm⁶⁴, dělostřelecké granáty vyzbrojené botulotoxinem, antraxem a aflatoxinem a že vlastnili letadla přizpůsobená pro rozprašování biologických agens na určitý cíl. (Spiers, 2010)

V roce 1984 ve státě Oregon bylo úmyslně infikováno stoupencem Bharwanem Shree Rajneeshem bakterií salmonely 751 lidí. V roce 1993 japonská sekta Óm Šinrikjó provedla regulérní útok v podobě rozprášení antracitu ve formě aerosolů v centru města Tokia z výškové budovy. Přes všechny rizika a vážnost tohoto útoku nebyly prokázány žádné úmrtí způsobené tímto útokem. Neúspěch byl způsoben záměnou typu antracitu. O dva roky později

⁶³ Scud je série taktických balistických raket vyvinutých v SSSR během studené války a exportovaných do mnoha dalších zemí. Balistická raketa znamená, že je schopná dopravit s vysokou přesností (kruhová odchylka většinou do 500 metrů) na různou vzdálenost (od stovek do 12 000 kilometrů) bojovou hlavici vybavenou konvenční výbušninou nebo častěji jadernou nebo termionukleární náloží. (Zaloga, 2008)

⁶⁴ Základním způsobem použití rakety 122mm je vedení nepřímé střelby. Tato zbraň je určena k provádění soustředěných palb na větší prostory jednotnými raketovými tříštivotrhavými náboji. Dostřel rakety je až 20 000m. (AČR)

byli zatčeni a odsouzeni dva členové milice skupiny Minnesota za držení ricinu, který si samy vyrobili a údajně chtěli použít proti jistým úředníkům. V roce 1996 se muž v městě Ohio pokusil získat vzorky dýmějového moru⁶⁵ prostřednictvím poštovní zásilky. (Hooker, 2014)

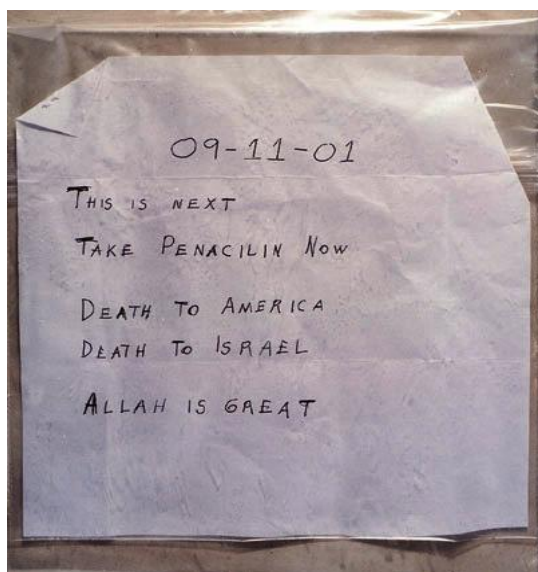
Asi k nejznámějšímu zneužití biologického agens došlo v r. 2001 po teroristickém útoku na World Trade Center v New Yorku. Od poloviny září do listopadu 2001 bylo rozesláno pět dopisů obsahující živé spory bakterie *anthracis* a to do mediálních kanceláří (televize NBC News, noviny New York post a The Sun na východě USA) a do amerického kongresu, dopisy byli konkrétně adresované senátorovi Leahyovi a Daschleovi. Bylo nakaženo 22 jedinců, z nichž 11 bylo nakaženo formou kožního antraxu a 11 formou plicního antraxu. Z jedenácti nakažených plicní formou antraxu 5 lidí zemřelo. Analýza identifikovala spory jako Amesův kmen *B. anthracis*, který není běžně v přírodě dostupný a je dostupný pouze v omezeném množství amerických laboratoří, což vedlo k obvinění hlavních podezřelých (Pohanka, 2010). Hlavní podezřelý Steven Hatfill byl kvůli nedostatečným důkazům dokonce r. 2008 odškodněn za obvinění a vědec Bruce Ivins těsně před svým zatčením spáchal sebevraždu. Tento biologický útok poukázal na naprostou nepřipravenost nejen USA, ale i celého světa. (Johnston, 2005) Obrázek 3 představuje vzhled obsahu dopisu, který byl adresován do New York post a NBC News.

Po roce 2001 došlo k dalším případů zneužití biologických agens. V prosinci bylo v Manchesteru zatčeno šest osob, které byly podezřené z terorismu a jejich byt sloužil jako laboratoř pro výrobu ricinu. V r. 2004 byly uzavřené tři administrativní budovy amerického senátu po tom, co byly v podatelně úřadu strany Bill First nalezeny stopy toxického ricinu. (Hooker, 2014)

Po roce 2001 se jednoznačně zvýšila ochranná opatření proti potencionálním biologickým útokům. Od r. 2004 nejsou oficiálně evidované žádné případy zneužití biologických agens, avšak vedou se například spekulace o možném úmyslném rozšíření současné epidemie Eboly v západní Africe. Tyto spekulace se však nepotvrdily. Následující kapitola obsahuje nejvýznamnější případy bioterorismu moderního světa.

⁶⁵ Dýmějový mor další název dříve zmíněného moru, který je způsobený bakterií *Yersina pestis*.

Obrázek 3: Antraxový dopis



STEBNER B. He was very entertaining': Senator 'who was sent ricin-laced letter by Elvis impersonator' had met performer at a party a decade ago and HIRED him to perform [obrázek]. MailOnline [online]. 2013 [Cit. 2015-03-04]. Dostupné z: <http://www.dailymail.co.uk/news/article-2310918/Ricin-suspect-Kevin-Curtis-Elvis-impersonator-body-parts-conspiracy-theorist-Mississippi-sent-poisoned-letters-Obama.html>.

7. Bioterorismus

Pro definování terorismu Spiers (2010) ve své knize uvádí definici Ministerstva zahraničí USA: „*terorismus je promyšlené, politicky motivované násilí páchané na neozbrojený cíl ze strany nevládních skupin nebo tajných agentů, obvykle se záměrem ovlivnit širokou veřejnost.*“ Bioterorismus je jednoduše forma terorismu, kdy jsou k útoku zneužity biologické prostředky (agens) k vyvolání onemocnění u lidí, zvířat či rostlin. Záměr teroristů není pouze poškodit civilní obyvatelstvo fyzicky, ale hlavně i psychicky a to tím, že vyvolají mezi civilním obyvatelstvem jistou paniku, strach a obavy z toho, že je jejich vláda nedokáže dostatečně ochránit (Hooker, 2014). K bioteroristickému útoku mohou teroristé využít, již dříve zmíněné biologické agens, které mohou také jakýmkoliv způsobem modifikovat, aby byly např. účinnější a složitěji identifikovatelné.

Asi nejpředpokládanější způsob bioteroristického útoku, jak bylo již v textu uvedeno, je biologický agens ve formě aerosolů. Výroba biologického činitele je velice složitá, někdy téměř až nepřekonatelná výzva a to zejména v případě přeměny z kapalného stavu na částice o vhodné velikosti a hustotě pro efektivní použití ve formě aerosolu. Aerosol může být ve formě vlhké mlhy nebo suchého prášku, který je vhodnější pro případnou přepravu a obecně se suchý prach pohybuje dále ve větru, čímž může zasáhnout širší plochu. (Spiers, 2010)

Podél Fletcher (2012) je jedna z nejznámějších teroristických skupin, která zneužila biologické agens pro bioteroristické útoky v podobě aerosolů, byla již zmíněná, skupina Óm Šinrikjó (dnes známá pod názvem Aleph). Óm Šinrikjó nebyla známá pouze biologickými útoky, ale naopak se stala celosvětově notoricky známou, hlavně díky chemickému útoku sarinem⁶⁶ spáchaném v březnu 1995 na cestující pěti souprav tokijského metra. Tento útok si vyžádal 12 obětí a víc než 1000 zraněných (Spiers, 2010). Tato sekta je velice rozmanitě nábožensky motivovaná a to prvky Tibetského buddhismu, knihou Zjevení a proroctví Nostradamuse a zahrnuje také uctívání Hinduistického boha zkázy Shivy. Tato sekta měla zhruba 50 000 členů a to cca 10 000 v Japonsku, 30 000 v Rusku a zbytek po celém světě (nejvíce Taiwan, USA, Německo). Nicméně Óm Šinrikjó začala produkci biologických zbraní v r. 1990 a to výrobou botulotoxinu. Útok botulotoxinem rozprášením v centru Tokia v r. 1990 však nebyl úspěšný. Následně se zaměřila na výrobu antraxu a po třech letech provedla již popsany útok rozprášení antraxu v centru Tokia. Celkově sekta Óm Šinrikjó provedla asi nejméně devět neúspěšných biologických útoků, i přesto se sekta snažila získat virus Eboly ze Zaire a rozšířit tak epidemii VHH, avšak neúspěšně a nakonec přešla k produkci chemických zbraní. (Fletcher, 2012)

Další nejznámější případ bioterorismu je útok formou antraxových dopisů. Tento případ jsem již podrobněji popsala v předchozí kapitole, přesto ještě uvedu část textu z knihy Spierse (2010): „*Dopady pěti (možná osmi⁶⁷) dopisů, které byly kontaminované zhruba deseti gramy suchého, práškového antraxu ukázaly, že bioterorismus může způsobit masivní šok, kolosální ekonomické škody, obrovské omezení a dekontaminační komplikace, a představují mnoho druhů komplikací a překážek pro bezpečnostní agentury.*“ Což je, jak jsem již uvedla na začátku této podkapitoly, hlavním cílem bioteroristických útoků a lze usoudit, že tento útok byl zcela úspěšný.

Podle Garrett (2011) se spekuluje i o tom, že jedna z nejznámějších teroristických skupin Al-Kaída, má podíl na útoku antraxovými dopisy, do dnes se však nenašly žádné

⁶⁶Sarin je vysoce toxická kapalná látka používaná jako nervově paralytická chemická zbraň. Její výroba je zakázána mezinárodní konvencí o nešíření chemických zbraní z roku 1993. (CDC, 2013i)

⁶⁷ Dopisů bylo osm, ale pouze pět z nich bylo kontaminováno toxickou dávkou antraxu.

přímé důkazy, které by toto obvinění jednoznačně potvrdily. Al-Kaída se spíše zaměřuje na nukleární zbraně hromadného ničení, přesto ale sám Usáma bin Ládín jednou prohlásil: „*Nepovažujeme za zločin, že se snažíme vyvinout a vlastnit nukleární, chemické a biologické zbraně*“. A po operaci americké armády „Operace trvalá svoboda“⁶⁸ byly v Kábulu nalezeny dokumenty a jiné důkazy prokazující, že Al Kaída zahájila výzkum a rozvoj biologických

a chemických zbraní. Na primární náklady tohoto výzkumu měla Al-Kaída vyhrazeno \$2 000 až \$4 000. Tento program nesl krycí jméno al-Zabadi (Spiers, 2010). Šlo o experimenty na zvířatech (psi, králíci) ve vesnici blízko města Jalalabad a byly vydány i instrukce pro zahájení stavby laboratoře a získání biologických agens a komerčního zařízení pro výrobu jistého agens (zřejmě šlo o antrax). V nalezené zprávě o pokroku ve výzkumu proklamovali, že do programu nebyli zapojeni žádní odborníci a výzkum proto prováděli jen nezalci a tím došlo k velké ztrátě času a peněz. Nicméně výzkum nebyl dokončen a žádné biologické útoky Al- Kaidy nebyli oficiálně evidovány. (Spiers, 2010)

Při bioteroristickém útoku nemusí jít pouze o útok na civilní obyvatelstvo, může jít také o tzv. bioterorismus v zemědělství, kdy může být biologickou látkou kontaminována úroda významná pro obživu obyvatelstva a tím způsobit hladomor či velké ekonomické ztráty. Také může dojít ke kontaminaci důležitých zdrojů vod pro závlahu a tím rostliny kontaminovat.

Je mnoho možností, jak ohrozit či poškodit lidstvo prostřednictvím biologických zbraní a je celkem děsivé, jak je jednoduché si některé biologické agens opatřit, což dokazují výše zmíněné bioteroristické případy.

⁶⁸ Operace trvalá svoboda je název pro vojenské akce USA po útocích 11. září 2001 deklarovaná jako součást americké války s terorismem (Global security).

8. Virové hemoragické horečky jako potenciální biologické zbraně

Pro stanovení potenciálu biologického agens pro použití jako biologické zbraně existuje řada faktorů a alespoň část z nich musí biologický agens vlastnit, jinak by při použití jako biologické zbraně nebyl zřejmě efektivní. Mezi tyto faktory patří například vysoká morbidita a mortalita podmíněná nízkou infekční dávkou, environmentální stabilita, schopnost tranzice z člověka na člověka a tranzice v podobě aerosolů, nedostupnost vakcíny nebo dostupnost účinné vakcíny v malém množství, potenciál vyvolat úzkost mezi lékařskými pracovníky a veřejností, potenciál pro výrobu ve velkém množství a využití v historii v některých výzkumných programech biologických zbraní. Právě virové hemoragické horečky odpovídají svými vlastnostmi většině těchto faktorů a i podle již uvedeného dělení CDC patří mezi potenciálně využitelné jako biologické zbraně. (Groseth et al., 2005)

Luciana et al. (2002) řadí mezi možně využitelné virové hemoragické horečky jako biologické zbraně Ebolu a Marburg, horečku Lassa, horečku Rift Valley, horečku Kyasanurského lesa, arenaviry Nového světa, Omskou hemoragická horečka, horečka Kyasanurského lesa a žlutou zimnici. Proti nákaze žlutou zimnicí existuje účinná vakcína, která je však efektivní pokud je očkovaná určitou dobu před infikováním se nákazou. Pokud je očkována až v době nakažení, není již účinná. Touto vakcínou bývají většinu očkováni lidé, kteří se připravují na cestu do endemických oblastí či přímo obyvatelé žijící v těchto oblastech. Mezi ty méně vhodné možné biologické zbraně Luciana et al (2002) řadí například horečku dengue. Jako důvod uvádí neschopnost dengue šíření vzduchem v podobě částic aerosolů a zřídka se objevující případy dengue, které způsobují VHH. Krymsko-konžská horečka a HH s renálním syndromem jsou přenositelné v podobě malých částic aerosolů, ale jsou faktory, které je nezařazují mezi ty potenciálně nejlépe využitelné jako biologické zbraně. Asi největším nedostatkem je velice malé množství buněčných vzorků, což je asi největší bariérou pro možnou výrobu většího množství těchto biologických látek a zároveň to ovlivňuje možný rozměr následných dopadů (např. počet obětí). Biologické agens CCHF a HFRS nelze snadno replikovat ve velkém množství v případě buněčných vzorků a následně je využít pro sestavení BW. Přesto ale CCHF a HFRS způsobují vysokou morbiditu a mortalitu při přírodním vypuknutí epidemie, CCHF může být přenášena z člověka na člověka a je endemická v centrální Asii a jižní Africe. Nicméně je důležité brát v potaz, že tyto v podstatě technické bariéry můžou být s technickým a vědeckým pokrokem odstraněny

a tyto VHH mohou být brzy stejně potenciálně nebezpečné jako například Ebola a Marburg. (Borio, 2002)

Co je velice pozitivním aspektem virových hemoragických horeček s ohledem na potenciál jako BW je možnost získat jejich biologických agens z více zdrojů. Řada biologických agens může být získána od nakažených osob či zvířat přímo v endemických oblastech nebo během epidemie. Také mohou být získány, pokud jsou známy, přímo od jejich přirozených rezervoárů či vektorů. Vedle přirozených výše uvedených pramenů, lze také biologické agens získat z jiných zdrojů. Jako první je možný případ laboratoří, které nejsou oficiálně uznávané a zaevidované pro držení určitých biologických agens. Například po prvotním zaznamenaném vypuknutí epidemie Marburg v roce 1967, byly následně vzorky agens této choroby rozesílány pro výzkum do laboratoří po celém světě a nyní je zcela nemožné zjistit, zda všechny laboratoře, které současně nemají pravomoc a povolení pro držení tohoto biologického agens, vzorky zničily nebo odevzdaly odpovídajícím institucím (Konvalinka, 2013). Další potenciální obava vyšla na povrch po rozpadu SSSR a jeho následné hospodářské krizi. Podle Rasca (2014) se spekuluje, že Rusko po rozpadu SSSR poskytovalo jiným národům, nebo dokonce i některým teroristickým skupinám přístup k již vyvinutým biologickým zbraním či k lidem, kteří se podíleli na programech věnujících se výzkumu a výrobě biologických zbraní. Poslední možností je získat vzorek přímo z laboratoří se zabezpečením BSL-4 a to právní cestou. V posledních letech se usiluje o zlepšení bezpečnosti těchto zařízení, avšak je velice složité zaregistrovat nepatrnou změnu v množství určitého biologického agens, které je potřebné například k iniciaci bioteroristického útoku (viz. útok antraxovými dopisy) (Luciana et al, 2002).

Otázkou také může být, pokud by byla některá z virových hemoragických horeček použita jako biologická zbraň, jakým způsobem je možné to zjistit a odlišit od přirozeně vzniklé infekční choroby či nákazy. Na tuto otázku je možné si odpovědět podle následujícího schématu USAMRIID (2010), které bylo vytvořené pro odlišení přirozené infekce a použití biologického agens jako zbraně:

- a) výskyt rozsáhlých epidemií s podobnými příznaky a to zejména o oddělených populací;
- b) mnoho případů nevysvětlitelných vážných chorob a úmrtí;
- c) velké množství vážných onemocnění než je u určitého agens obvyklé a selhání obvykle účinné léčebné terapie;
- d) výskyt onemocnění nebo rozšířené nákazy v neobvyklé oblasti a roční době;
- e) nemoc je šířena vektorem, který se v dané oblasti nevyskytuje;

- f) mnoho podobných nebo za sebou jdoucích epidemií různých chorob u stejné populace;
- g) jednotlivé případy neobvyklých chorob-neštovice, hemoragické horečky, plicní antrax a mor;
- h) choroba, která je neobvyklá pro danou věkovou skupinu
- i) neobvyklé kmeny, varianty organismu nebo atypická antimikrobiální resistance;
- j) podobný nebo stejný genetický typ původce z různých časových období a odlišných lokalit;
- k) vyšší míra postižení u obyvatel vystavených viru v určitém prostředí (například uvnitř budovy nebo venku v závislosti na zneužití agens v exteriéru či interiéru);
- l) vypuknutí stejné choroby v oblasti, kde normálně nehrozí infekce;
- m) vypuknutí zoonotických chorob;
- n) vypuknutí zoonotických onemocnění u lidí, ale ne u zvířat;
- o) informace o potencionálním útoku teroristy či jiného agresora, nebo nalezení nějaké munice či důkazy o manipulaci se zařízením vhodném k šíření biologických agens.

8. 1. Historie VHH jako biologických zbraní

Žádná z virových hemoragických horeček nebyla v minulosti jako biologická zbraň oficiálně použita a pokud byla někdy použita, její použití nebylo zjištěno a bylo to považováno za přirozené vypuknutí epidemie. Virové hemoragické horečky byly militarizovány v Sovětském svazu (Rusku), USA a spekuluje se o tom, že v Severní Koreji byla využita pro výrobu biologické zbraně žlutá zimnice. Podle NTI (2014) se tyto spekulace potvrdili díky svědectví několika uprchlíků ze Severní Koreje a jisté dokumenty Ministerstva národní obrany Jižní Koreje tvrdí, že Severní Korea je schopna vyvinout asi 13 biologických látek potencionálních pro použití jako biologické zbraně. Sovětský svaz se věnoval hlavně produkci velkého množství virů Eboly, Marburg, horečky Lassa a virům Nového světa (zejména vir Junin a Machupo). V SSSR se pokoušeli kvantifikovat potřebné množství viru Marburg v podobě aerosolů k účinnému infikování opic a zjistili, že k infikování je potřebné nesmírně malé množství. Viry žluté zimnice a horečky Rift Valley byly vyvinuty v biologické zbraně americkým obranným programem proti biologickým zbraním, který byl ukončen v r. 1969. Další, již v práci zmíněný, byl neúspěšný případ možného zneužití virových hemoragických horeček japonskou sektou Óm Šinrikjó, kdy chtěla získat vzorek viru Eboly pro výrobu biologické zbraně při epidemii v Zaire. Nicméně mnoho studií v minulosti

prokázalo úspěšné infikování zvířecích primátů prostřednictvím vyvinutých aerosolových částic virů Ebola, Marburg, Lassa a arenavirů Nového světa. Oficiálně se virové hemoragické horečky staly potenciální biologickou zbraní v r. 1999, kdy byly podle dříve uvedené kategorizace CDC zařazeny do kategorie A – kategorie potenciálních biologických agens. (Rasco, 2004)

9. Závěr

Práce se zabývá otázkou potenciálního využití virových hemoragických horeček jako biologických zbraní. Záměrem této práce bylo odpovědět na tuto otázku a zároveň charakterizovat VHH a objasnit téma týkající se biologických zbraní a bioterorismu.

V první části jsou VHH charakterizovány, jsou popsány všechny druhy virových hemoragických horeček a je stručně popsán jejich současný výskyt na světě. U jednotlivých typů je uvedena míra úmrtnosti a možnost šíření pro srovnání s ostatními VHH, pro odlišení vzhledem k jejich závažnosti a možného potenciálu použití jako biologické zbraně. Výskyt VHH je situován zejména v regionech rozvojových zemí což, jak se během rešerše literatury potvrdilo, způsobuje, kvůli slabé infrastruktuře a špatným zdravotnickým zařízením, velkou míru úmrtnosti místních obyvatel a výrazný zásah do místní ekonomiky. Otázkou však stále zůstává, zda by dopady v rozvinutých zemích byly jiné? Jelikož v posledních staletích v regionu zemí s vyššími příjmy žádná epidemie VHH nevypukla a pokud ano, nebyla zaznamenána, je nedostatek zdrojů a literatury, která by se touto otázkou zabývala. Přesto se lze v současné době setkat s vědci a lékaři, kteří mají vzhledem k této záležitosti určitý názor. Nelze však jasně odpovědět na tuto otázku prostřednictvím subjektivních názorů jednotlivců a proto může být tato otázka podkladem pro další výzkum.

Druhá část stručně charakterizuje biologické zbraně a biologické agens vhodné pro jejich použití. V průběhu zpracování tohoto tématu byl zjištěn fakt, že i přes mezinárodní úmluvu odzbrojení zakazující vývoj, výrobu a skladování všech kategorií biologických zbraní (zbraní hromadného ničení) v některých zemích k výrobě a vývoji stále dochází. Kvůli vědeckému pokroku a větší vzdělanosti široké veřejnosti dochází také k zneužívání biologických zbraní teroristickými skupinami. Také je velice jednoduché vyhledat návod na sestavení určitých biologických zbraní na internetu, který je volně dostupný pro každého, což je přes všechna rádo by „přísná opatření“ naprostým paradoxem. Dokazuje to, že mezinárodní úmluvy nejsou celkovým řešením a že je potřeba zaměřit se na určité lokální skupiny.

Nicméně potenciál VHH pro použití byl během této práce potvrzen a to zvláště u určitých typů. V minulosti byly virové hemoragické horečky pro potenciální biologický útok vyvíjeny, avšak nebyl oficiálně zaznamenán žádný, který by potvrdil jejich použití. Nelze ale tvrdit, že žádný takový biologický útok nebyl spáchán – zjistit původ dané epidemie je velice složité a můžeme tedy spekulovat, zda rozpoutání některé epidemie bylo cílené.

Seznam použité literatury

Knížní zdroje:

DOSTÁL, V. et al. *Infektologie*. 1. vydání. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 80-246-0749-2.

CHRISTOPHER, G., CIESLAK, T., PAVLIN, J., EITZEN, EM. Biological warfare: a historical perspective. *J. Am. Med. Assoc.*, 1997, 278: 412-417.

JURSÍK F. *Anorganická chemie kovů*. 1. vyd. 2002. ISBN 80-7080-504-8

KOHOUTOVÁ, M. et al. *Lékařská biologie a genetika. (II. díl)*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2012. ISBN 978-80-246-1873-9.

KONVALINKA, J. a MACHALA L. *Viry pro 21. století*. Vyd. 2. Praha: Academia, 2013, 143 s. Průhledy (Academia), sv. 8. ISBN 9788020022714.

POHANKA, M. a kol. *Biologické zbraně*. Vyd. 1. Hradec Králové: Univerzita obrany, 2010. 80 s. Učební texty Fakulty vojenského zdravotnictví Univerzity obrany v Hradci Králové; sv. 363. ISBN 978-80-7231-342-6.

SPIERS, E. M. *A history of chemical and biological weapons*. Vyd. 1. Londýn: Reaktion, 2010, 223 p. ISBN 1861896514.

ŠMARDA, J. *Metody molekulární biologie*. Vyd. 1. Brno: Masarykova univerzita, 2005, 188 s. ISBN 80-210-3841-1.

VOKURKA, M. a HUGO J. *Velký lékařský slovník: Martin Vokurka, Jan Hugo a kolektiv*. Vyd. 9. Praha: Maxdorf, 2009, 1147 s. ISBN 978-807-3452-025.

ZALOGA, S. J. SCUD – řízená střela a odpalovací systémy 1955 – 2005. Praha: Grada, 2008. 48 s. ISBN 978-80-247-2418-8.

Online zdroje

AČR. Historie: 122mm RM vz. 70 [online]. [cit. 2015-03-10]. Dostupné z: <http://www.acr.army.cz/technika-a-vyzbroj/pozemni-technika/technika-druhu-vojsk/122mm-rm-vz--70-5026/>.

ADREY, R. E. *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry: An Introduction* [online]. 2003 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.1002/0470867299. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/0470867299>.

BAIRWA, S. Dr., SAXENA, S. Dr. a DUTTA, R. Dr.. Viral Hemorrhagic Fevers. *Jeevanu Times* [online]. 2011, Vyd. 11, č. 2, s. 16 – 19 [cit. 2014-11-03]. Dostupné z: http://issuu.com/iammdc/docs/jeevanutimes_dec_2011.

BARON, S. *Medical microbiology*. Bunyaviruses. Vyd 4. Galveston, Tex.: University of Texas Medical Branch at Galveston [online]. 1996. Kap. 56 [cit. 2014-19-01]. ISBN 09-631-1721-1. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8004/>.

BOARDMAN, A. Viral hemorrhagic fever. *Primary Care Update for OB/GYNS* [online]. 2003, Vyd. 10, č. 2, s. 81-86 [cit. 2014-11-03]. DOI: 10.1016/S1068-607X(02)00169-5. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1068607X02001695>.

BRAY, M., JEMIELITY S., FARZAN M. a CHOE H. Pathogenesis of viral hemorrhagic fever. *Current Opinion in Immunology* [online]. 2005, Vyd. 17, č. 4, s. 305–316 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1201/b15172-20.

BRONZE, M. S., HUYCKE M. M., MACHADO L.J., VOSKUH G.W., Ronald A. GREENFIELD R.A., DANCE D.A.B., GROSETH A., JONES S., ARTSOB H. a FELDMANN H. Viral Agents as Biological Weapons and Agents of Bioterrorism. *The*

American Journal of the Medical Sciences [online]. 2002, Vyd. 323, č. 6, s. 169–191 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1007/978-1-4419-1266-4_6.

CDC. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (HFRS) [online]. 2011 [cit. 2015-01-26]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/hantavirus/hfrs/index.html>.

CDC. Yellow fever. Transmission of Yellow Fever Virus [online]. 2011b [cit. 2015-01-25]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/yellowfever/transmission/index.html>.

CDC. Yellow Fever Outbreak Southern Sudan 2003 [online]. 2011c [cit. 2015-02-26]. Dostupné z: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/10/9/03-0727_article.

CDC. Arenaviridae [online]. 2013 [cit. 2015-01-16]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/virus-families/arenaviridae.html>.

CDC. Bunyaviridae [online]. 2013a [cit. 2015-01-16]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/virus-families/bunyaviridae.html>.

CDC. Omsk Hemorrhagic Fever (OHF) [online]. 2013b [cit. 2015-01-26]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/omsk/transmission/index.html>.

CDC. Kyasanur Forest Disease (KFD) [online]. 2013c [cit. 2015-01-26]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/kyasanur/transmission/index.html>.

CDC. Rift Valley Fever (RVF). Signs and Symptoms [online]. 2013d [cit. 2015-01-26]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/rvf/symptoms/index.html>.

CDC. Omsk Hemorrhagic Fever (OHF). Fact sheet [online]. 2013e [cit. 2015-02-26]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/omsk/Omsk-FactSheet.pdf>.

CDC. Dengue [online]. 2013f [cit. 2015-02-26]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/Dengue/>.

CDC. Rift Valley (RVF). Fact sheet [online]. 2013g [cit. 2015-02-26]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/rvf/RVF-FactSheet.pdf>.

CDC. Crimean-Congo Hemorrhagic fever. Fact sheet [online]. 2013h [cit. 2015-02-26]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/crimean-congo/CCHF-FactSheet.pdf>.

CDC. Facts about Sarin [online]. 2013i [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://www.bt.cdc.gov/agent/sarin/basics/facts.asp>.

CDC. Viral hemorrhagic fevers. [online]. 2013j [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/vhf.htm>.

CDC. Arenaviridae [online]. 2014 [cit. 2015-01-16]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/virus-families/arenaviridae.html>.

CDC. Yellow fever. Symptoms and Treatment [online]. 2014a [cit. 2015-01-16]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/yellowfever/symptoms/index.html>.

CDC. Dengue homepage. Epidemiology [online]. 2014b [cit. 2015-01-25]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/dengue/epidemiology/index.html>.

CDC. Lassa Fever. Fact sheet [online]. 2014c [cit. 2015-02-26]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/lassa/resources/Lassa-FactSheet.pdf>.

CDC. *CDC health information for international travel 2014 the yellow book* [online]. 2014d [cit. 2014-11-03]. ISBN 978-019-9948-505. Dostupné z: <http://wwwnc.cdc.gov/travel/page/yellowbook-home-2014>.

CDC. 2014 Ebola Outbreak in West Africa - Case Counts [online]. 2015 [cit. 2015-03-30]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/case-counts.html>.

CDC. Bioterrorism Agents/Diseases [online]. 2015a [cit. 2015-03-04]. Dostupné z: <http://emergency.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp>.

HERRING, D. What is el niño [online]. 1999 [cit. 2015-02-05]. Dostupné z: <http://earthobservatory.nasa.gov/Features/ElNino/>.

CHOSEWOOD, L. WILSON D. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Vyd. 5. Washington, D.C.: U.S. Dept. of Health and Human Services. Public Health Service. Centers for Disease Control and Prevention. National Institutes of Health [2009]. 415 stran
Dostupné z: <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/BMBL.pdf>.

DUDLEY, J. P. a WOODFORD, M. H. Bioweapons, Biodiversity, and Ecocide: Potential Effects of Biological Weapons on Biological Diversity. *BioScience* [online]. 2002, Vyd. 52, č. 7 [cit. 2015-01-20]. DOI: 10.1007/springerreference_29470.

FTIKA, L. a MALTEZOU H.C. Viral haemorrhagic fevers in healthcare settings. *Journal of Hospital Infection* [online]. 2013, Vyd. 83, č. 3, s. 185 – 192 [cit. 2015-03-17]. DOI: 10.1016/j.jhin.2012.10.013.

GARZA A. Dr. The Truth About BioWatch: The Importance of Early Detection of a Potential Biological Attack [online]. 2012 [cit. 2014-11-03]. Dostupné z: <http://www.dhs.gov/blog/2012/07/12/truth-about-biowatch>.

GLOBAL SECURITY. Operation Enduring Freedom – Deployments [online]. [cit. 2015-03-12]. Dostupné z: <http://www.dhs.gov/blog/2012/07/12/truth-about-biowatch>

GROSETH A., JONES S., ARTSOB H. and FELDMANN H. Hemorrhagic Fever Viruses as Biological weapons [online]. *Bioterrorism and Infectious Agents*. s. 169 – 187, 2005 [cit. 2015-03-14]. Dostupné z: http://download.springer.com/static/pdf/166/chp%253A10.1007%252F978-1-4419-1266-4_6.pdf?auth66=1426425900_5469bf462f1331e8eebce8b16db0dc4a&ext=.pdf.

HOOKER E. MD. DrPH. Biological warfare [online]. 2014 [cit. 2015-03-12]. Dostupné z: http://www.emedicinehealth.com/biological_warfare/article_em.htm.

IDF. Organization and Development of the Immune System [online]. 2014 [cit. 2015-03-12]. Dostupné z: <http://primaryimmune.org/about-primary-immunodeficiencies/relevant-info/the-immune-system/>.

ILCHMANN, K., REVILL, J., RICHARDT, A., DIERSTEIN, R. a SPIERS, E. M. Chemical and Biological Weapons in the 'New Wars'. *Science and Engineering Ethics* [online]. 2013, Vyd. 20, č. 3, s. 21 – 33 [cit. 2014-11-03]. DOI: 10.4159/harvard.9780674594173.c13.

INTERNÍ MEDICÍNA PRO PRAXI. Kazuistiky čtyř pacientů s akutním renálním syndromem a hantavírovou hemorrhagickou horečkou [online]. 2003 [cit. 2015-02-26]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2003/11/10.pdf>.

IPPOLITO, G., FELDMANN, H., LANINI, S., VAIRO, F., CARO, Di A., CAPOBIANCHI, M., NICASTRI, E., SINGH, S. a RUZEK, D. Viral hemorrhagic fevers: advancing the level of treatment. *BMC Medicine* [online]. 2012, Vyd. 10, č. 1 [cit. 2014-11-03]. DOI: 10.1201/b15172.

JOHNSTON, R. Review of Fall 2001 Anthrax Bioattacks [online]. 2005 [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/niosh/nas/rdrp/appendices/chapter6/a6-45.pdf>.

KAŇOVSKÝ, P. doc. MUDr. CSc., Diferenciální diagnostika neurodegenerativních chorob doprovázených demencí [online]. 2003 [cit. 2015-03-09]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2003/08/13.pdf>.

KOLEKTIV AUTORŮ. Sestra a urgentní stavy. Grada Publishing a.s. [online]. 2008. s. 518 – 86 [cit. 2015-01-28]. ISBN 8024725487, 9788024725482. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=oZ0q3ukn6EIC&pg=PA517&lpg=PA517&dq=multisyst%C3%A9mov%C3%A9+selh%C3%A1n%C3%AD+org%C3%A1n%C5%AF&source=bl&ots=kj1UaLYY81&sig=iaYDLWI5F9fIm5H6NIveNHTmVL8&hl=cs&sa=X&ei=_83KVNDNMcniaMnlgsB&ved=0CDAQ6AEwAA#v=onepage&q=multisyst%C3%A9mov%C3%A9%20selh%C3%A1n%C3%AD%20org%C3%A1n%C5%AF&f=false.

MACHALA, Virové hemoragické horečky [online], 2009 Vyd. 11, č.5 [cit. 2014-02-27]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/artkey/int-200905-0004.php>.

MEDICINENET. Electrolytes [online]. 2014 [cit. 2015-01-29]. Dostupné z: <http://www.medicinenet.com/electrolytes/article.htm>.

METRIC CONVERSIONS. Převod Mikron [online]. [cit. 2015-03-04]. Dostupné z: <http://www.metric-conversions.org/cs/delku/prevod-mikron.htm>.

MICROSCOPY. What is electron microscopy [online]. 2014 [cit. 2015-02-23]. Dostupné z: https://www.jic.ac.uk/microscopy/intro_EM.html.

NATO. NATO handbook on the medical aspects of NBC defensive operations a Med P-6(B). Part II-Biological [online]. 1996 [cit. 2015-03-04]. Dostupné z: <http://fas.org/irp/doddir/army/fm8-9.pdf>.

NTI. North Korea. Biological [online]. 2014 [cit. 2015-03-14]. Dostupné z: <http://www.nti.org/country-profiles/north-korea/biological/>.

OPCW. Brief Description of Chemical Weapons [online]. [cit. 2015-03-04]. Dostupné z: <http://www.opcw.org/about-chemical-weapons/what-is-a-chemical-weapon/>.

PAESSLER, S. a WALKER, D. H. Pathogenesis of the Viral Hemorrhagic Fevers. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* [online]. 2013, Vyd. 8, č. 1, s. 411 – 440 [cit. 2015-01-15]. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164041. Dostupné z: http://www.academia.edu/9751203/Pathogenesis_of_the_Viral_Hemorrhagic_Fevers.

PETRÁŠ, M. a LESNÁ, I. K. Očkování proti žluté zimnici [online]. 2014 [cit. 2015-02-05]. Dostupné z: http://www.vakciny.net/ockovani_cizina/zluta_zimnice.html#TOP.

POSPÍŠIL, L. Vozhřivka – Eradikovaná nemoc nebo hrozba? [online]. 2001 [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: http://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych-clanek/vozhrivka-eradiovana-nemoc-nebo-hrozba-25792?confirm_rules=1.

RASCO, B. A. *Bioterrorism and food safety* [online]. Boca Raton: CRC Press, 2005, 414 s. [cit. 2015-03-15]. ISBN 08-493-2787-3. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470439074.ch29/summary>.

SAPSFORD, K. E. Sensors for detecting biological agents. *Materials Today* [online]. 2008, Vyd. 11, č. 3, s. 38 – 49 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.1016/S1369-7021(08)70018-X. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136970210870018X>.

SOLTERBURG, R., REINEMANN, CH. a STREHLITZ, B. Selex—A (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands [online]. 2007 [cit. 2015-03-08]. *Biomolecular engineering*. New York: Elsevier, ©1999, s. 381 – 403. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389034407000664>.

STEBNER B. He was very entertaining': Senator 'who was sent ricin-laced letter by Elvis impersonator' had met performer at a party a decade ago and HIRED him to perform . MailOnline [online]. 2013 [Cit. 2015-03-04]. Dostupné z: <http://www.dailymail.co.uk/news/article-2310918/Ricin-suspect-Kevin-Curtis-Elvis-impersonator-body-parts-conspiracy-theorist-Mississippi-sent-poisoned-letters-Obama.html>.

SYROVÁTKA, M. a HARMÁČEK, J. Klasifikace rozvojových zemí [online]. 2014 [cit. 2014-01-16]. Dostupné z: <http://www.development.upol.cz/wp-content/uploads/2013/02/Syrov%C3%A1tka-Harm%C3%A1%C4%8Dek-2014-Klasifikace-rozvojov%C3%BDch-zem%C3%AD.pdf>.

UNODA. Nuclear Weapons [online]. [cit. 2014-03-04]. Dostupné z: <http://www.un.org/disarmament/WMD/Nuclear/>.

USAMRIID. *Medical managment of biological causalties handbook* [online]. Vyd. 7. Mariland: Fort Detrick, 2011 [cit. 2015-03-15]. Dostupné z: <http://www.usamriid.army.mil/education/bluebookpdf/USAMRIID%20BlueBook%207th%20Edition%20-%20Sep%202011.pdf>.

WHO. Dengue and severe dengue [online]. 2014 [cit. 2014-01-16]. Dostupné z: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>.

WHO. Yellow fever [online]. 2014a [cit. 2015-02-26]. Dostupné z: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs100/en/>.

WHO. Rift Valley Fever (RVF) [online]. 2015 [cit. 2014-01-16]. Dostupné z: <http://www.who.int/csr/disease/riftvalleyfev/en/>

WHO. Biohazard warning sign for laboratory doors. Laboratory Biosafety Manual [online]. WHO, 2004. Vyd. 3. s. 10, [Cit. 2015-03-04]. ISBN 92 4 154650 6. Dostupné z: <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf?ua=1>.

WB. Country and Lending Groups [online]. 2014 [cit. 2014-01-16]. Dostupné z: http://data.worldbank.org/about/country-and-lending-groups#Low_income.

ZAMBELLI, B., MUSIANI, F., BENINI, S. a CIURLI, S. Chemistry of Ni²⁺ in Urease: Sensing, Trafficking, and Catalysis. *Accounts of Chemical Research* [online]. 2011. Vyd. 44. č. 5 520–530. DOI:10.1021/ar200041k. PMID 21542631. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ar200041k>.