

Review

TERORIZAM I BIOLOŠKO I TOKSINSKO ORUŽJE

Slavko BOKAN

Zapovjedništvo za izobrazbu i obuku HKoV, Zagreb

Primljeno veljače 2003.

Biološko i toksinsko oružje se koristi u biološkom ratu s ciljem namjernog izazivanja masovnih infektivnih bolesti ljudi, životinja i korisnog bilja u epidemijskim razmjerima te slabljenja ratnih potencijala protivnika. Biološki i toksinski ratni agensi uključuju sve patogene mikroorganizme kao što su virusi, rikecije, bakterije, gljivice i protozoe, prirodne, izmijenjene ili sintetizirane (genetičkim inženjerstvom ili drugim biotehnološkim postupcima) i njihove toksine ako su namijenjeni za nemiroљubive svrhe. Obrana od većine bioloških ratnih agensa je slaba i ograničena. Uskladištene količine cjepiva, seruma i antibiotika su relativno male za mnoge zarazne bolesti a količina antidota protiv toksina je ekstremno ograničena. Klinička slika bolesti i otrovanja te mehanizmi toksičnog djelovanja određuju sve mjere zdravstvenog zbrinjavanja, medicinski tretman, antidotnu terapiju kao i mjere zaštite i dekontaminaciju.

KLJUČNE RIJEČI: *biološki agensi, bioregulatori, medicinski tretman, rat, toksinski agensi, zaštita i dekontaminacija*

Biološko oružje se koristi u biološkom ratu s ciljem namjernog izazivanja masovnih infektivnih bolesti ljudi, životinja i korisnog bilja u epidemijskim razmjerima i slabljenja ratnih potencijala protivnika. Međunarodne konvencije koriste dvojne nazive kao "bakteriološko (biološko) oružje" i "bakteriološki (biološki) rat". Biološki i toksinski ratni agensi uključuju sve patogene mikroorganizme kao što su virusi, rikecije, bakterije, gljivice i protozoe, prirodne, izmijenjene ili sintetizirane (genetičkim inženjerstvom ili drugim biotehnološkim postupcima) i njihove toksine ako su namijenjeni za nemiroљubive svrhe. To su mikroorganizmi koji se inficiraju i razmnožavaju u ciljnom domaćinu uzrokujući kliničku bolest koja ubija ili onesposobljava organizam tog domaćina. Prema definiciji NATO-a biološki i toksinski ratni agensi su mikroorganizmi i toksini dobiveni od njih koji uzrokuju bolest ljudi, životinja i biljaka ili koji uzrokuju razgradnju tvari. Prema Konvenciji o zabrani bakteriološkog (biološkog) i toksinskog oružja iz 1972. godine, biološko i toksinsko oružje su mikrobijalne i druge tvari koje sadržavaju biološke agense ili toksine bez obzira na njihovo podrijetlo ili metodu proizvodnje,

vrstu i količine koje nemaju pravno opravdanje za profilaktičke, zaštitne i druge miroljubive svrhe. Pojam biološkog oružja je uveden poslije II. svjetskog rata i dijelom je potisnuo dotadašnji pojam bakteriološko oružje. Međutim, niti jedan od navedenih pojmova ne određuje neposredno organizme koji se upotrebljavaju. Pojam bakteriološko oružje je nepotpun jer obuhvaća samo bakterije i njihove toksine. Pojam biološko oružje je bolji, ali preširok jer osim mikroorganizama obuhvaća i višestanične organizme. Zato bi najbolji naziv bio mikrobiološko oružje koji se međutim ipak ne koristi.

Kad su patogeni mikroorganizmi proizvedeni u određenim laboratorijima i određenim metodama (selekcije, izmjene i stabilizacije sojeva uzročnika), u određenim količinama i s određenom namjenom [izazivanje epidemija (ljudi), epizootija (životinje), epifitocija (biljke)], označavaju se kao biološki ratni agensi. Kad su uključeni u sisteme za njihovu primjenu i prenošenje u borbeno stanje postaju biološka i toksinska oružja. Brojne zarazne bolesti i intoksikacije uzrokuju tzv. dvostruko prijeteći agensi - DPA (dual-threat agents-DTAs). Ovaj termin se

danas često koristi u literaturi i podrazumijeva viruse, bakterije, rikecije, gljivice i protozoe kao i toksine koji nisu samo prirodno opasni za živi organizam već mogu biti namjerno korišteni kao biološko ili toksinsko oružje uzrokujući bolest i smrt ljudi, životinja i biljaka. DPA su najčešće uzročnici endemskih bolesti koje imaju visok postotak pobola i smrtnosti, te uzročnici tzv. "iznenadnih teških bolesti" (1, 2).

Ne postoje dokazi namjerne uporabe biološkog oružja u modernim ratovima pa se stvarne posljedice biološkog rata mogu teško predvidjeti. Procjene se temelje na prirodnim epidemijama i eksperimentalnim laboratorijskim modelima što se ne može uzeti kao pravilo.

Uporaba patogena kao načina ratovanja je prvi put izričito zabranjena Ženevskim protokolom 1925. godine. Razvoj, proizvodnju i uskladištenje biološkog i toksinskog oružja zabranjuje Konvencija o zabrani biološkog i toksinskog oružja iz 1975. godine (BTWC) i Konvencija o zabrani kemijskog oružja iz 1993. godine (CWC) u koju su uvršteni i neki toksini. Znakoviti su podaci američke vojske u II. svjetskom ratu prema kojima je od ukupnog broja bolesnih 85,2 % bolovalo od infektivnih bolesti, a samo 3,4 % ranjenih u borbi i 11,4 % ostalih povreda.

Nakon usvajanja Konvencije o zabrani usavršavanja, proizvodnje i uskladištenja bakteriološkog (biološkog) i toksinskog oružja te o njihovom uništenju 1972. i stupanja na snagu 1975. godine, počinje vrijeme moderne biotehnologije te se genetičkim inženjstvom otvaraju neslućene mogućnosti u raznim znanstvenim područjima. Tada započinje i militarizacija biotehnologije ciljanim izmjenama strukture gena u mikroorganizmima. Genetičko inženjstvo je unaprijedilo i razvilo potpuno nove tipove bioloških i toksinskih ratnih agensa, i to izmjenom određenog patogenog mikroorganizma koji se razlikuje od njegovih roditelja, njegovom klasifikacijom u novi agens i proizvodnjom novih agensa koji omogućuju kombinacije "poželjnih obilježja" kao što su kontrolirana virulencija i toksičnost patogena (3).

Moderne rekombinatorne DNA- tehnologije omogućile su i razvoj genetičkog oružja. To su biološki i kemijski ratni agensi uključujući i toksine koji imaju kancerogene i mutagene kao i teratogene učinke, a čine tzv. "buduću višegeneracijsku bombu", mnogo opasniju od danas poznatih visokotoksičnih tvari. Međutim, teško je vjerovati da bi se ovo oružje koristilo u neprijateljske svrhe zbog svog izrazitog odgođenog djelovanja.

Biološki ratni agensi su kao dio "NBK" ili oružja za masovno uništavanje, ekstremno destruktivni mikroorganizmi i to najviše virusi i najmanje gljivice, a između njih su protozoe, bakterije i rikecije. Toksini su dvostruki proizvodi mikroorganizama, biljaka i životinja, i svrstavaju se u hibridnu kategoriju (mješance) između bioloških i kemijskih ratnih agensa. Neki od toksina kao npr. botulin i ricin su znatno otrovniji od najotrovnijih živčanih bojnih otrova. Biološka i toksinska oružja koja su relativno jeftinija i lako se konstruiraju, imaju prednost i posebno su atraktivna za terorističke skupine i zemlje sponzore terorizma. Ova oružja se mogu proizvesti tajno, a uporabu je nemoguće na vrijeme otkriti što predstavlja ekstremnu opasnost za zemlju koja je napadnuta. Ova tvrdnja još dobiva na značaju kad se biološki agens uvede u endemsko područje, odnosno kad se koristi uzročnik zarazne bolesti koja je karakteristična za to područje, što je još teže identificirati kao biološki napad.

Obrana od najviše bioloških ratnih agensa je slaba i ograničena. Uskladištene količine cjepiva, seruma i antibiotika su relativno male za mnoge zarazne bolesti, a količina antidota protiv toksina je ekstremno ograničena. Nadalje, antibiotici općenito moraju biti primijenjeni brzo što zahtijeva brzu i ranu detekciju uzročnika epidemijske zarazne bolesti.

Kako tzv. klasični biološki agensi jesu velika opasnost, a u genetičkim inženjstvom izmijenjenom obliku mogu biti još veća, neophodno je čim prije utvrditi koje bi infektivne bolesti oni mogli uzrokovati i pripremiti se za njih. Nova vrsta oružja će biti tzv. "peta generacija ofenzivnog programa biološkog oružja", i to u drugom i trećem desetljeću 21. stoljeća (4, 5).

Razvijat će se novi onesposobljavajući ratni agensi kao što su toksini i bioregulatori (bioregulacijski peptidi). To su prekursori proteina sastavljeni od aminokiselina, djelotvorni u vrlo niskim koncentracijama (ppm ili ppb) što čini njihovu detekciju izuzetno teškom. Oni mogu biti uspješno izmijenjeni kao agonisti (još djelotvornije tvari) i antagonisti (imaju suprotno djelovanje). Ove tvari su izrazito teške za detekciju. Budući je teško bioregulator koristiti u obliku aerosola, već se radi na izmjeni mikroorganizama koji bi bili vektori koji, kad uđu u napadnuti organizam, proizvode i izlučuju takav bioregulacijski peptid.

Ako se razmotri biološka obrana u 21. stoljeću, jasna je kontinuirana potreba reduciranja broja agensa koji su na raspolaganju kao ratni agensi. Zbog danas prisutnog nedovoljnog razvoja i unapređenja protubiološke obrane, povećati će se rizik od tih oružja. Zbog toga treba pojačati pasivnu i aktivnu protubiološku obranu, kontrolu biološkog i toksinskog

oružja te imati djelotvorne režime verifikacije. Međutim, unapređenje znanja iz molekularne medicine i potencijal znanosti u medicini dat će doprinos razvoju novih sistema oružja, ciljano protiv anatomskih i fizioloških sistema. Ključna je danas u razvoju novih strateških bioloških i toksinskih oružja nepredvidljivost njihovog učinka. Iako je i moguće dizajnirati idealni mikroorganizam pogodan za stratešku uporabu, teško ga je testirati u terenskim uvjetima. Primjena tzv. moćnog samoograničavajućeg biološkog ratnog agensa kao novog strateškog oružja na jedan grad, imala bi učinak kao i nuklearna eksplozija snage jedne kilotone. Biološko oružje se može koristiti prikriveno za razliku od drugih oružja. Napadnuti i nije svjestan da je izložen djelovanju biološkog oružja, a naknadno je teško utvrditi odgovornost.

U tajnom biološkom ratu agresor će započeti s uzročnicima bolesti koje se javljaju prirodno u tretiranom području, kod ograničenih lokalnih akcija koje kasnije mogu poprimiti razmjere epidemije. Obzirom da je biološko oružje vrlo selektivno, može se koristiti ciljano npr. protiv životinja i korisnog bilja i time umanjiti obrambene sposobnosti napadnutoga. Međutim, teško je odrediti prostorne i vremenske granice napadnutoga područja. Vojno-tehničke značajke koje ograničavaju uporabu biološkog oružja su brojne: ovisnost o meteorološkim uvjetima, odloženi, a ne neposredni učinak, nepouzdana kontrola djelotvornosti, moguće retroaktivno djelovanje. Zbog toga je biološko oružje strategijsko oružje za široku primjenu protiv cjelokupnog pučanstva, a može se koristiti za lokalne diverzantske, terorističke akcije i sabotaze. Prema dostupnim literaturnim podacima ispitivani su praktično svi pojedinačni predstavnici svih skupina mikroorganizama (bakterija, rikecija, klamidija, virusa, gljivica i protozoa), a kao potencijalno biološko oružje uzeti su u obzir i istraživano je oko 60 uzročnika zaraznih bolesti ljudi, životinja i korisnog bilja (6).

Biološki napad je neophodno čim prije identificirati te, zbog organizacije zaštite, otkriti biološki i toksinski ratni agens prije nego se pojavi bolest.

Nemogućnost pravovremenog otkrivanja biološkog napada uvjetuje odloženu ili naknadnu aktivnost oko provođenja ovih mjera. Zbog toga se nažalost mjere provode kad su posljedice već vidljive što se svodi na izolaciju i zbrinjavanje oboljelih te na sprječavanje širenja zarazne bolesti, što se u osnovu ne razlikuje od mjera pri suzbijanju prirodnih epidemija.

Općenito je prihvaćeno da će prvi podatak o biološkom napadu biti pojava velikog broja oboljelih ljudi, masovni pomor životinja i propadanje korisnog bilja. Pred sustav protubiološke obrane kod

biološkog napada se postavljaju mnogi problemi, a posebno u okviru zdravstvenog zbrinjavanja, kao što su prepoznavanje biološkog napada, određivanje primijenjenog biološkog i toksinskog ratnog agensa, određivanje načina zbrinjavanja (trijaža, mediko-evakuacijske značajke, liječenje). Zaštita od biološkog i toksinskog oružja ima malo zajedničkog sa zaštitom od kemijskog i nuklearnog oružja zbog znatnih razlika među njima, ali se neki postupci i principi mogu koristiti za protubiološku zaštitu. Primjena biološkog i toksinskog oružja je tajna pa je nemoguće otkriti vremensku i prostornu ekspoziciju, a zbog svoje vlastite reprodukcije biološki ratni agensi se šire sekundarno dalje. Postupak kod biološkog napada je sličan onom kod prirodno nastalih epidemija zaraznih bolesti (tablica 1).

Rano otkrivanje biološkog napada je dosta složen i zahtjevan posao zbog toga što se biološko oružje ne može zapaziti osjetilima kao većina kemijskih agensa, a potrebno je u što kraćem vremenu iz velike kontaminirane sredine (zrak, voda i hrana) otkriti vrlo male količine mikroorganizama koji pripadaju velikom broju različitih vrsta.

Kontaminirane sredine sadržavaju i druge nepatogene i organske tvari koje otežavaju brzo fizikalno i kemijsko nespecifično otkrivanje. Posebno je teško otkriti biološke ratne agense kojima su namjerno genetičkim inženjerstvom izmijenjene značajke.

Kritični biološki agensi prema Centru za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC) iz SAD-a koji bi se koristili u biološkom terorizmu s gledišta nacionalne sigurnosti, javno zdravstvenog sustava i davatelja žurnog odgovora, uključuju patogene i toksine koji se prema potencijalnom riziku svrstavaju u tri kategorije prema određenim kriterijima (7).

I. kategorija terorističkih bioloških agensa i toksina ispunjava sljedeće kriterije:

- mogućnost lake diseminacije ili prijenosa s čovjeka na čovjeka,
- visoki stupanj pobola i smrtnosti te snažan učinak na nepripremljeno javno zdravstvo,
- mogućnost izazivanja masovne panike,
- posebni zahtjevi i pripravljenost javnih zdravstvenih ustanova.

I. kategorija uključuje sljedeće biološke agense i toksine:

- *Virus velikih boginja* (Velike boginje)
- *Bacillus anthracis* (Antraks, bedrenica, crni pršt)
- *Yersinia pestis* (Kuga)

Tablica 1 *Biološki ratni agensi uzročnici infektivnih bolesti ljudi s prikazom inkubacije u danima, epidemiološkim učinkom, mortalitetom i terapijom*

Bolest	Inkubacija (dani)	Trajanje bolesti (dani)	Mortalitet	Epidemijski učinak	Terapija
A. Infektivne bolesti koje se prenose aerogenim putem					
I. Bakterijske:					
Kuga	2-5	1-2	visoki	veliki	antibiotici + cjepivo
Antraks	3-5	3-5	visoki	slab	antibiotici + cjepivo
Tularemija	1-10	14-21	visoki	slab	antibiotici
Difterija	2-7	7-70	visoki	veliki	cjepivo + antibiotici
Meningitis	2-10	?-14	visoki	veliki	antibiotici
II. Riketsijske:					
Q-groznica	14-22	5-21	slab	slab	antibiotici
III. Virusne:					
Lasinska grozn.	2-14	7-15	visoki	veliki	nedostaje
Marburška groznica	2-15	7-20	visoki	veliki	nedostaje
Ebola groznica	2-21	7-10	visoki	veliki	nedostaje
HGBS	3-45	7-25	visoki	veliki	nedostaje, Ribavirin
Groznica doline Rift	2-5	7-14	visoki	veliki	nedostaje, Ribavirin
KKHG	3-12	2-7	visoki	veliki	nedostaje, Ribavirin
Ostale virusne hemoragijske groznice	2-14	7-15	visoki	veliki	nedostaje
Adenoinfekcije	5-7	2-7	niski	veliki	nedostaje
Variola	12-14	oko 21	visoki	veliki	nedostaje, cijepljenje i izolacija
Cocksakie infekcije	3-5	1-14	niski	veliki	slaba
B. Akutne crijevne infektivne bolesti					
I. Bakterijske					
Trbušni tifus	7-21	28-42	niski	veliki	antibiotici
Kolera	<1-5	7-14	visoki	veliki	infuzija
Enterotoksin (E. coli)	2-6	7-14	niski	slab	infuzija
Malteška groznica	14-60	90-360	niski	nema	antibiotici
C. Infektivne bolesti prenošene insektima					
I. Bakterijske					
Kuga	2-5	1-2	visoki	veliki	antibiotici
Tularemija	1-10	14-21	visoki	slab	antibiotici
II. Riketsijske:					
Tifus stjenovitih planina	3-10	14-21	visoki	slab	antibiotici
Pjegavi tifus	6-15	14-28	visoki	slab	antibiotici
III. Virusne					
Žuta groznica	2-6	7-10	visoki	veliki	nedostaje
Denga groznica	3-15	5-8	niski	slab	nedostaje
Encefalitis	7-14	17-32	niski	slab	nedostaje
D. Infektivne bolesti koje uzrokuju protozoe					
Primarni amebni meningoencefalitis	3-5	5-7	niski	slab	Amphotericinom B
E. Infektivne bolesti koje uzrokuju gljivice					
Kokcidiodomikoza	10-21	15-30	niski	slab	Amphotericinom B
Histoplazmoza	5-18	15-30	niski	slab	Amphotericinom B
Nokardioza	nepoznata	30-40	visoki	slab	Sulfadiazin

- *Botulin toksin* (Botulizam)
- *Francisella tularensis* (Tularemija)
- *Ebola virus* (Ebola groznica)
- *Marburg virus* (Marburška groznica)
- *Lassa virus* (Lasinska groznica)
- *Junin virus* (Argentinska hemoragijska groznica)

II. kategorija terorističkih bioloških agensa i toksina ispunjava sljedeće kriterije:

- osrednja mogućnost diseminacije,
- osrednji pobol i niži stupanj smrtnosti
- zahtijeva specifičnu pripremljenost dijagnostičkih kapaciteta i zdravstvenog zbrinjavanja.

II. kategorija uključuje sljedeće biološke agense i toksine:

- *Coxiella burnetti* (Q groznica)
- *Bricella sp.* (Bruceloza)
- *Burkholderia mallei* (Maleus)
- *Virus Venecuelskog konjskog encefalitisa* (Venezuelski konjski encefalomijelitis)
- *Virus istočnog i zapadnog konjskog encefalitisa* (Istočni i Zapadni konjski encefalitis)
- *Ricin*
- *Clostridium perfringens toksin*
- *Stafilokokni enterotoksin B*

Ova kategorija uključuje i patogene koji se prenose hranom i vodom:

- *Salmonella sp.* (Trbušni tifus)
- *Shyella dysenteriae* (Dizenterija)
- *Escherichia coli o157:H7* (Enterokolitis)
- *Vibrio cholerae* (Kolera)

III. kategorija terorističkih bioloških agensa uključuje nove i već poznate patogene koji se mogu pripremiti za masovnu diseminaciju u budućnosti, a koji ispunjavaju sljedeće kriterije:

- lako su dostupni,
- lako se mogu proizvesti i diseminirati,
- imaju snažan učinak na nepripremljeno javno zdravstvo

III. kategorija uključuje sljedeće biološke agense:

- *Nipah virus* (Nipah encefalitis)
- *Hantavirusi* (Hemoragijska groznica s bubrežnim sindromom)
- *Virusi krpeljnih hemoragijskih groznica* (Krim-Kongo hemoragijska groznica, Kjasanurska šumska bolest, Omska hemoragijska groznica)

- *Virus krpeljnog meningoencefalitisa* (Krpeljni meningoencefalitis)
- *Virus žute groznice* (Žuta groznica)
- *na lijekove rezistentni uzročnici tuberkuloze.*

Otkrivanje kemijskog agensa kod kemijskog napada znači kvalitativno i kvantitativno određivanje, a detekcija biološkog agensa sadržava nespecifično otkrivanje porasta sadržaja mikroorganizama. Američka i engleska vojska ima već razvijene programe za brzo otkrivanje bioloških i toksinskih ratnih agensa. Metode otkrivanja bioloških i toksinskih ratnih agensa uključuju (8):

- izolaciju etiološkog agensa pomoću kulture za što je potrebno 1-2 dana,
- detekciju toksina masenom spektroskopijom, inokulacijom životinja ili biološki pokus te druge metode,
- otkrivanje protutijela ili specifičnih imunoglobulina (IgM) unutar 3 dana,
- otkrivanje antigena pomoću enzimatskih imunih analiza ili drugih osjetljivih metoda,
- otkrivanje genoma primjenom DNA proba i sondi,
- otkrivanje metaboličkih produkata infektivnih i toksinskih agensa u kliničkim uzorcima.

MEDICINSKI TRETMAN OBOLJELIH

U početku epidemije ili iza biološkog napada dok se ne zna uzročnik, liječenje se određuje prema kliničko-epidemiološkoj (sindromskoj) dijagnostici, a izbor terapije (antibiotika) se određuje prema terapijskoj dijagnostici ("diagnosis ex iuvantibus"). Antibiotiska terapija mora se praktički dati svim oboljelim, čak i bez čvrste dijagnoze. Najveći broj bakterijskih, klamidijskih i riketsijskih bolesti liječi se uspješno antibioticima. Odabir lijeka ovisi o kliničkim okolnostima, ali antibiotici širokog spektra daju se u punim terapijskim dozama i ako je moguće parenteralno (najbolje i.v.). Terapija se započinje što je prije moguće u najranijem periodu medicinske skrbi. Simptomatska terapija se poduzima kod snižavanja povišene tjelesne temperature, smanjenja bolova i patnji, održavanja spontanog disanja i osiguranja i.v. primjene lijekova i tekućina. Izolacijski postupci kod pacijenata oboljelih od prenosivih bolesti bitni su za zaštitu medicinskih djelatnika i širenje bolesti nakon biološkog napada ili incidenta. Antivirusna terapija se

danas može provoditi jedinom antivirusnom širokog spektra, *ribavirinom*, koji je učinkovit u tretmanu virusnih bolesti nastalih prirodnim putem i to kod Lasinske groznice, Krim-Kongo HG i HGHS (9, 10).

Nažalost ne postoji pouzdan medicinski tretman protiv mnogih bioloških i toksinskih ratnih agensa, ni danas niti u predvidivoj budućnosti, koristeći čak i najrazvijenije medicinske tehnologije i postupke. Cjepiva nisu rješenje iako su danas najbolja zaštita. Čak i najbolja cjepiva su djelomično učinkovita. Ona ne mogu zaštititi protiv novih mikroorganizama koji su izmijenjeni tehnikama genetičkog inženjerstva. Novi medicinski tretmani kao što su mono- i poliklonska protutijela su još u razvoju.

Profilaksa kao specifična zaštita od biološkog oružja, provodi se žurno kao urgentna profilaksa, a uključuje uporabu imunoloških preparata i antibiotika prije biološkog napada (prijeekspozicijska profilaksa) ili nakon pojave prvih bolesnika (posljeekspozicijska profilaksa). Budući da se biološki napad prepoznaje s pojavom prvih bolesnika, profilaksa će biti posljeekspozicijska jer se masovna zaštita ne može izvesti zbog velikog broja uzročnika za koje još nema specifične zaštite (cjepiva).

Metode osobne i kolektivne zaštite koje se koriste za zaštitu od kemijskog oružja mogu se u principu koristiti za zaštitu i od biološkog i toksinskog oružja koje se prenosi aerogenim putem (aerosol). Međutim zahtjevi za zaštitu od bioloških i toksinskih ratnih agensa su mnogo veći, nego za zaštitu od kemijskih ratnih agensa.

Biološka dekontaminacija je skup mjera i postupaka za uklanjanje i uništavanje patogenih mikroorganizama (uništavanje nije obavezna mjera) do stupnja kada ne postoji rizik od infekcije. Prema obimu se može podijeliti na djelomičnu, koja se provodi odmah iza biološkog napada u zoni napada, a obavljaju je pojedinci ili skupine (samodekontaminacija i uzajamna dekontaminacija) i potpunu, koja se provodi izvan zone kontaminacije. Djelomična biološka dekontaminacija koja obuhvaća čišćenje odjeće, pranje i umivanje vodom i sapunom, dezinfekciju otvorenih dijelova kože, može biti djelotvornija od potpune.

U sklopu djelomične biološke dekontaminacije koriste se i dezinfekcijska sredstva (klorno vapno 0,1-0,2 %, lizol 5 %, formalin 5-10 % ili kloramin s 3 % aktivnog klora). Potpuna biološka dekontaminacija obuhvaća dezinfekciju odjeće i opreme te kupanje ljudi i ostalu osobnu higijenu.

Kemijske metode biološke dekontaminacije koriste otopine, plin i aerosol kemijskih sredstava

za dekontaminaciju, a učinak ovisi o koncentraciji dezinficijensa, o pH- vrijednostima i temperaturi. Pravilo je da se objekt dekontaminacije najprije očisti od organskih nečistoća (pranjem i čišćenjem) koje mogu smanjiti ili neutralizirati učinak dezinficijensa. Fizikalne metode biološke dekontaminacije za potpunu dekontaminaciju koriste visoku temperaturu i zračenja. Za potpuno uništavanje mikroorganizama suhim toplim zrakom potrebna je temperatura od 160 °C tijekom 2 sata, a ako se koristi vodena para 121 °C uz tlak od 1 atmosfere u trajanju od 20 minuta (autoklaviranje). Vegetativni oblici mikroorganizama se uništavaju za 15 minuta.

Visoko otporni mikroorganizmi (spore *B. anthracis* i mikotoksini) se ne mogu pouzdano uništiti kemijskim metodama pa je potrebno obaviti dekontaminaciju s tzv. trostrukim zagrijavanjem: na 170 °C 1 sat, zatim na 138 °C 3 sata te na kraju na 150 °C 10 minuta.

Danas su najdostupniji i najučinkovitiji natrijev hipoklorit (0,5 %), formaldehid (1 %-tna otopina ili u obliku pare) lizol i fenolski preprati, sapun i topla voda. Dobra fizikalna metoda dekontaminacije je i izlaganje sunčevoj svjetlosti (UV-zračenje) koja ubija većinu mikroorganizama.

TOKSINSKI RATNI AGENSI

Toksinski ratni agensi su najotrovnije danas poznate visokotoksične tvari specifičnog djelovanja na živi organizam (tablica 2). Proizvode ih živi organizmi (mikroorganizmi, životinje i biljke) ili su kemijski sintetizirani. Zbog toga što imaju obilježja neživih tvari i ne razmnožavaju se, svrstavaju se i u bojne otrove. Izvori toksina su bakterije, životinje, reptili, insekti, biljke i morski organizmi. Jedna molekula botulin toksina ili ricina ubit će stanicu koja je milijun puta veća od nje. Toksinski ratni agensi imaju obilježja i kemijskih i bioloških ratnih agensa. Za razliku od bioloških ratnih agensa oni nisu ni infektivni niti kontagiozni, a kod otrovanja ne mogu se tretirati antibioticima i kemoterapeuticima. Za sada postoji samo nekoliko cjepiva za zaštitu od toksina.

Zbog toga što su toksini kemijske tvari prije nego živi agensi, oni nemaju inkubacijsko vrijeme, nego vrijeme latencije, prije nego uzrokuju svoj toksični učinak (tablica 3). Mnogi toksini imaju mnogo brži učinak od bojnih otrova. Nekoliko toksina može uzrokovati simptome otrovanja unutar nekoliko minuta, ali kratka odgoda od nekoliko sati je najčešće

Tablica 2 Brojčanost toksina prema stupnju toksičnosti i prirodnim izvorima

Izvori toksina	Najtoksičniji toksini LD ₅₀ <0,025μg/kg	Visokotoksični toksini LD ₅₀ 0,025-2,5μg/kg	Umjereno toksični toksini LD ₅₀ >2,5μg/kg	Ukupno
Broj toksina u svakoj od skupina izvora toksina				
Bakterije	17	12	>20	>49
Biljke	-	5	>31	>36
Gljivice	-	-	>26	>26
Morski organizmi	-	>46	>65	>111
Zmije	-	8	>116	>124
Alge	-	2	>20	>22
Insekti	-	-	>22	>22
Vodozemci	-	-	>5	>5
Ukupno	17	>73	>305	>395

Tablica 3 Vrijeme toksičnog djelovanja i smrtnost toksinskih ratnih agensa

Toksin Vrijeme toksičnog učinka	LD ₅₀ (μg/kg)	Mehanizam djelovanja Toksični učinci
Vrlo brzo: 5 minuta		
Anatoksin A ili uzročnik vrlo brze smrti (very fast death factor) (VFDF)	170-250	Neurotoksin paralitičkog smrtonosnog djelovanja, simptomi kao kod djelovanja živčanog bojnog otrova (veže se za ACh i može inhibirati AChE)
Konotoksin	3-6	Smrtonosni neurotoksin, uzrokuje mišićnu slabost
Palitoksin	0.08	Povećava propusnost natrija kroz membrane
Brzo: 5 minuta do 1 sat		
Difterija toksin	0.03	Smrtonosni toksin, upala ždrijela, oticanje žlijezda
Batrahotoxin	0.1-2	Paralitički smrtonosni neurotoksin žabe, neuromuskularni blok (povećava propusnost natrija kroz membrane)
Ricin (injektiran)	0.1-3.7	Smrtonosni citotoksin (inhibitor sinteze bjelančevina)
Taipoksin	2	Smrtonosni zmijski paralitički neurotoksin (blokira ACh)
Saksitoksin	5-12 (oralno) 1 (aerosol)	Smrtonosni toksin, obamrlost, ukočenost, mišićna slabost, nekoordinacija, respiratorni distres (blokira natrijevu pumpu)
Tetrodotoksin	8 (injektirano) 30 (oralno)	Smrtonosni neuromuskularni blok, obamrlost, gubitak mišićne kontrole, gubitak glasa (blokira natrijevu pumpu)
α-Latrotoksin	10	Smrtonosni neurotoksin pauka, simptomi paralitičkog kemijskog agensa
Noteksin	20	Smrtonosni neurotoksin zmije, paralitičko djelovanje (blokada ACh ili receptora ACh)
β-Bungarotoksin	20	Smrtonosni neurotoksin zmije, paralitičko djelovanje (blokada ACh ili receptora ACh)
Kobratoksin	75	Smrtonosni neurotoksin zmije, paralitičko djelovanje (blokada ACh ili receptora ACh)
Mikrocistin ili uzročnik brze smrti (fast death factor) (FDF)	50-100	Smrtonosni citotoksin, oštećuje membranu jetrenih stanica
Odgođeno: 1-12 sati		
Ricin	3 (oralno)	Smrtonosni citotoksin, mučnina, povraćanje, grčevi, krvarenje na nos, proljevi, smetnje disanja (inhibitor sinteze bjelančevina)
Stafilokokni enterotoksin B (SEB)	20 (injektiran) 200 (aerosol)	Onesposobljavajući toksin, simptomi akutnog trovanja hranom
Botulin toksin (oralno)	0.0003-0.1	Smrtonosni neurotoksin, ptoza očnih kapaka, midrijaza, dupla slika, groznica, paraliza (blokira oslobađanje ACh)
T-2 (koža, aerosol, oralno)	50-240 (aerosol)	Onesposobljavajući smrtonosni citotoksin, crvenilo, osip i mjehuri po koži, mučnina, povraćanje krvi, proljevi (blokira natrijevu pumpu)
Vrlo odgođeno: 12 sati		
Tetanus toksin (injektiran)	0.0025 (ljudi)	Smrtonosni neurotoksin, bolne mišićne kontrakcije, "grč čeljusti" (blokira oslobađanje ACh)

vrijeme djelovanja većine toksina. Prema definiciji oružja za masovno uništavanje su ona oružja koja uzrokuju ogromna razaranja i izazivaju velike ljudske gubitke, dok su toksinska oružja ona koja uzrokuju velike ljudske gubitke, ali bez uništavanja i razaranja. Od oko 400 danas poznatih toksina, 15 do 20 imaju značajke toksinskih ratnih agensa čija uporaba može uzrokovati izrazite vojne i terorističke učinke (11).

Toksini se prema svojim kemijskim značajkama dijele na:

- 1) Peptide i polipeptide koji su direktno ukodirani u tzv. *tox*-genima (*aflatoksini*, *trichoteceni*) molekularne mase 250-550 i mogu se kemijski sintetizirati.
- 2) Oligomerne toksine koji su ukodirani u nekoliko *tox*-gena, a čiji proizvodi se nakon sinteze pomiješaju (*botulin neurotoksin*, *kolera toksin*, *ricin*, *tetanus toksin*).
- 3) Nепroteinske toksine niske molekulske mase koji su proizvod intermedijarnog metabolizma stanice (*antraks toksin*, *difterija toksin*).

Toksini pod 1 i 2 se mogu proizvoditi temeljnom tehnologijom i u većim količinama u laboratoriju. Za toksine pod 3 potrebna je visoko-sofisticirana oprema i specifično znanje.

Genetičko inženjerstvo omogućava otkrivanje i izdvajanje tzv. *tox*-gena za proizvodnju toksina, njihovo umnožavanje (kloniranje) i prijenos u ostale stanice domaćina ili u stanice primatelja (bakterije).

DNA-plazmidi su manje molekule DNA u citoplazmi bakterija ili ekstrakromosomalna nasljedna tvar koja se danas koristi za prijenos *tox*-gena od izvornog organizma, od kojeg se želi dobiti toksin. Takvi kodirani plazmidi se prenose u bakteriju koja novi DNA-niz očita i tijekom staničnog dijeljenja proizvodi toksin.

Proizvodnja je za neke toksine jednostavna, a za neke vrlo zahtjevna i skupa. Bakterijski toksini se mogu lako i jeftino proizvoditi u velikim količinama za ratnu uporabu. Mikroorganizam "roditelj" toksina se kultivira u povoljnom hranidbenom mediju i nakon određenog vremena toksin se može "ubirati" ili izdvojiti iz hranilišta. Biljni toksin *ricin* se također može lako proizvoditi u velikim količinama potrebnim za ratnu uporabu. Međutim ostale toksine koje proizvode životinje, reptili, insekti i morske toksine je teško izdvojiti iz njihovih prirodnih izvora, ali i na bilo koji drugi način proizvesti u većim količinama. Razvojem biotehnoloških metoda i kloniranjem gena za proizvodnju nekih toksina, te ugradnjom tih tzv. *tox*-gena u mikroorganizme, omogućava se proizvodnja toksina u većim količinama, lakše i

jeftinije nego iz prirodnih izvora toksina. Toksinski ratni agensi sadržavaju niz aminokiselina i variraju u molekularnoj masi između nekoliko stotina (peptidi) i stotine tisuća (proteini). Genetička tehnologija i biotehnološke metode omogućile su proizvodnju toksina u velikim količinama, a tzv. rekombinantnim DNA tehnologijama i izmjenama gena u toksinu mogu se promijeniti i bitne osobine istog (npr. može se povećati otpornost toksina na vanjske utjecaje i njihova toksičnost). Toksini su idealni agensi za uporabu u terorističkim i diverzantskim akcijama.

Toksini su najotrovnije danas poznate kemijske tvari. Njihov učinak se očituje u dozama manjim od 10-8 g/kg tjelesne težine za čovjeka (Botulin toksin). Toksini mogu imati smrtonosni i onesposobljavajući učinak, i tisuće puta su otrovniji od bojnih otrova. Učinci ovise o toksinu, dozi i putu ulaska u organizam. Vrijeme između početka ekspozicije (prvog kontakta s toksinom) ili kontaminacije i pojave prvih simptoma otrovanja naziva se latencija, a mjeri se u rasponu od nekoliko minuta do nekoliko sati. Kod većine toksina je značajno to da su učinkovitije oralne od inhalacijskih doza. Toksini visoke molekulske mase nisu značajna prijetnja kod oralne i dermalne ekspozicije (12).

Toksini kao ratni agensi postaju zanimljivi zadnjih godina zbog:

- a) *ekstremno visoke toksičnosti i učinkovitosti toksina* što je izazvalo njihovu militarizaciju zbog izrazito veće toksičnosti nego kod organofosfornih spojeva i živčanih bojnih otrova. Zbog toga je i streljivo za primjenu toksinskih ratnih agensa izrazito manje od ostalog streljiva. Primjerice američka vojska je ispitala jedan od najboljih onesposobljavajućih toksina, *Stafilokokni enterotoksin B (SEB)* čija je efektivna doza bitno manja od doze kemijskih onesposobljavajućih ratnih agensa za postizanje istog učinka.
- b) *mikroinkapsulacije toksina i aerobiologije* koja je bitno unaprijedila djelotvornost toksina, posebno botulin toksina. Raspršivanjem ovog toksina u obliku aerosolnih mikrokapsula za inhalacijsku ekspoziciju uzrokuje se bitno teži oblik otrovanja nego kod peroralne ekspozicije.
- c) *novootkrivenih toksina* koji povećavaju vojni interes (otkriveno je preko 300 novih mikotoksina).
- d) *novih metoda u biotehnologiji* kao što su genetičko inženjerstvo, stanične tehnike, proteinsko inženjerstvo, imunološke tehnike

koje su značajno unaprijedile proizvodnju toksina bez rizika i učinile ih još otrovnijima.

- e) *razvoja metoda zaštite, dijagnostike, profilakse i terapije* protiv toksinskih ratnih agensa novim djelotvornijim metodama. Američka vojska danas radi na projektima unapređenja zaštite od neurotoksina, trihotecena, saksitoksina i tetrodotoksina.

Neki od toksina su proteini visoke molekulske mase, neki su tvari slične proteinima niske molekulske mase, a neki uopće ne spadaju u proteine. Toksini koji su tvari slične proteinima su većinom krutine, a pojavljuju se i kao vodene otopine. Proteinski toksini visoke molekulske mase su općenito manje stabilni od neproteinskih toksina. Neki toksini su jako stabilni i otporni i mogu ostati uskladišteni godinama ne gubeći na toksičnosti. Toksini biljnog podrijetla su stabilniji od životinjskih toksina.

Bakterijski toksini se pojavljuju u dva oblika, kao egzotoksini i endotoksini, ovisno o njihovoj kemijskoj strukturi, otpornosti na toplinu, o načinu oslobađanja iz patogene bakterije i mehanizmu djelovanja. Proizvode ih mnoge bakterije uključujući i Gram- pozitivne i Gram-negativne mikroorganizme i mnogi od njih su enzimi. Bakterijski toksini imaju različita ciljna mjesta djelovanja kao što su crijevna sluznica (enterotoksini), žvci i sinapse (neurotoksini) ili koža (eksfolijativni toksini).

Egzotoksini su neposredno toksični za domaćina jer djeluju pretežno na živčani sustav. Proizvode ih bakterije i mogu se rasprostraniti unutar stanice ili izlučivati izvana u okolinu. Bakterijski egzotoksini su tvari velike molekulske mase i dio su normalnog metabolizma bakterije, a neki su enzimi. Oni se izlučuju iz razmnoženih bakterija u organizmu (npr. botulin toksin i difterija toksin). Različite vrste klostridija-bakterija (*Clostridium*: botulinum, tetani, perfringens) izlučuju desetke različitih toksina u vrijeme infektivnih bolesti koje uzrokuju. Neki od njih uništavaju eritrocite, dok drugi razaraju tkiva (nekroza). Bakterije *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* proizvode na toplinu otporne egzotoksine koji prvenstveno djeluju u probavnom traktu pa se nazivaju enterotoksini. Izrazito su toksični i LD_{50} im je uglavnom 10-3 mg/kg. S obzirom da su ovi toksini proteini, toplina, kiseline i lužine ih lako učine netoksičnima (13).

Endotoksini se za razliku od egzotoksina izlučuju i pripadaju samom izvornom mikroorganizmu. Endotoksini su u stvari oblik enzima koji uzrokuju hemolizu i aglutinaciju eritrocita i destrukciju leukocita. *Rickettsia prowazekii* koja uzrokuje tifus pjegavac

proizvodi endotoksin. Endotoksin uzrokuje brzo uništavanje eritrocita i povećava propusnost stijenki krvnih žila što izaziva krvarenja.

Toksini niske molekulske mase kao batrahotoksin, saksitoksini tetrodotoksin su peptidi niske molekulske mase (u svom sastavu imaju do 50 aminokiselina) i mogu se kemijski sintetizirati. Toksini koji su klonirani ili čija je aminokiselina sekvencionirana, su na toplinu stabilni toksini kao što su *Escherichia coli* i *Staphylococcus enterotoksini*, letalni faktor antraksa, difterija toksin, ricin i tetanus toksin.

Prema toksičnosti se toksinski ratni agensi danas dijele na najtoksičnije toksine čiji je $LD_{50} < 0,025 \mu\text{g/kg}$, visoko toksične toksine s LD_{50} od 0,025 do 2,5 $\mu\text{g/kg}$ i umjereno toksične toksine s $LD_{50} > 2,5 \mu\text{g/kg}$.

Skupina najtoksičnijih toksina može uzrokovati masovne ljudske gubitke, odnosno masovni pobol s vrlo visokim stupnjem smrtnosti (80-100 %). To su pravi toksinski ratni agensi koji se koriste u obliku aerosola za inhalacijsku ekspoziciju za pokrivanje velikih površina. Medicinski tretman kod otrovanja ovim toksinima je moguć i kod većine učinkovit. Skupina visoko toksičnih toksina se može koristiti u obliku aerosola pri terorističkim akcijama u zatvorenom prostoru npr. ventilacijski sustavi u velikim zgradama ili na otvorenom s malom učinkovitosti. Skupina umjereno toksičnih toksina se svrstava u oružja za atentate ili neposredne napade na osobe jer nema učinkovitog medicinskog tretmana kod otrovanja ovim toksinima. S obzirom da je ovu vrstu toksina teško proizvesti u velikim količinama, oni se u velikim ratnim operacijama ne bi koristili, već bi se primijenili bakterijski i biljni toksini koji su toksičniji, a lakše se i jeftinije proizvode.

Onesposobljavajući toksini uzrokuju bolest mnogo manjom dozom nego što je ona koja uzrokuje smrtni ishod. Naime toksini koji neposredno djeluju na respiratorne sluznice i na ravnotežu tekućine unutar pluća, mogu bitno smanjiti prijenos plinova i tako prouzročiti smrt.

Prema mehanizmima djelovanja toksini se svrstavaju u dvije velike skupine neurotoksina i citotoksina. Neurotoksini se dijele na presinaptičke i postsinaptičke toksine koji blokiraju ionske membranske kanale i ionofore.

Neurotoksini ili "živčani toksini" ometaju prijenos živčanih impulsa jer imaju visoko specifične učinke na živčanom sustavu. Različiti neurotoksini imaju različite mehanizme djelovanja i uzrokuju znatno različite učinke. Oni mogu stimulirati ili inhibirati oslobađanje acetilkolina, blokirati receptore ili ometati aktivnost ionskih pumpi i kanala. Neurotoksini mogu uzrokovati

simptome slične onima kod otrovanja živčanim bojnim otrovima kao što su mioza, konvulzije i spastičnu paralizu ili neke druge simptome kao što su mutne vizije, preosjetljivost na svjetlo zbog midrijaze, tremor, konfuzno ponašanje te mlohavu paralizu. Otrovi zmija i škorpiona sadržavaju proteinima slične neurotoksine kao što su botulin i tetanus toksin. Neurotoksini se prema njihovim mehanizmima toksičnog djelovanja mogu podijeliti na presinaptičke i postsinaptičke toksine, toksine koji blokiraju ionske membranske kanale i ionofore.

Presinaptički toksini su paralitički mikrobijalni toksini kao što su botulin, tetanus toksin i fosfolipaze (enzimi) zmijskog otrova koji su smrtonosni ako se prenose aerosolnim putem (inhalacijska ekspozicija). Botulin i tetanus neurotoksini blokiraju oslobađanje acetilkolina. Zmijski otrovi također sadrže toksine koji imaju presinaptičke učinke, odnosno blokiraju oslobađanje acetilkolina (ACh) na živčanim sinapsama pomoću enzima fosfolipaze. Presinaptički toksin botulin uzrokuju mlohavu mišićnu paralizu, a tetanus toksin spastičnu paralizu što ovisi o mehanizmima njihova toksičnog djelovanja.

Postsinaptički toksini blokiraju ACh-receptore na postsinaptičkim vezama. Na taj način djeluju konotoksin (toksin morskih puževa), zmijski α -toksini (kobratoksin, α -bungarotoksin) i erabutoksin (toksin morske zmije).

Toksini koji blokiraju ionske membranske kanale otežavaju prolaz iona kroz stanične membrane. Aktivnost živčane i mišićne stanice održava ravnotežu s obje strane membrane difuzijom iona Na^+ i K^+ kroz membranu. Za vrijeme prolaska živčanog impulsa uzduž živčanog aksona ili tijekom kontrakcije mišićnog vlakna otvore se specifični ionski kanali u membrani koja pri tome depolarizira svoj površinski naboj. Ometanje ovih procesa uzrokuje paralizu živaca ili mišića. Izvori ovih toksina su otrovi zmija, škorpiona i pčela. Toksini koji se obično mogu naći u otrovu životinja mesoždera kao što su konotoksini iz otrova morskih puževa roda *Conus*, imaju vrlo brzo djelovanje jer blokiraju kanale za ione kalcija Ca_2^+ u membrani živčanih stanica i vlakana. Toksini koji ometaju kanal iona natrija Na^+ su toksini škorpiona i zmija čegrtuša (myotoksin A, gryotoksin, crotamin). To su manje stabilni proteini koji se mogu prenositi i širiti kao aerosoli. Batrahotoksin je toksin koji proizvodi kolumbijska zelena žaba. To je neproteinski toksin s niskom molekulskom masom koji uzrokuje neurotoksične učinke ometajući kanale iona natrija. Toksin koji ometa kanal iona kalija K^+ je apamin ili otrov pčele.

Ionofore su molekule koje pospješuju prolaz drugih molekula kroz staničnu membranu. α -latrotoksin (toksični dio otrova crne udovice) i diamphotoksin (toksin kukca kornjaša koji je sličan stršljenu) su ionofore. One ometaju ravnotežu molekula preko membrane živčane stanice i mogu prenositi molekule u stanicu iz okoline te time ometati biokemijske procese u stanici.

Citotoksini ili "stanični otrovi" uzrokuju mnogostruke učinke zbog njihovih različitih mehanizama djelovanja. Neki od njih ubijaju stanicu, a neki ometaju aktivnost stanice kao što je sinteza bjelančevina i druge biokemijske procese. Simptomi koje izazivaju citotoksini mogu biti slični onima od kožnih bojnih otrova, otrova koji izazivaju povraćanje i mogu nalikovati otrovanjima hranom. Također mogu uzrokovati i mučnine, povraćanje, proljeve, upalne promjene te osip i mjhure po koži, kao i žuticu, krvarenja i nekrotične promjene. Proteinima slični citotoksini uzrokuju simptome slične onima kod vrlo teških infektivnih bolesti koje nastaju širenjem uzročnika tih bolesti prirodnim putem. To su antraks, difterija, dizenterija, pertusis i kuga.

Toksinski ratni agensi se mogu uporabiti i diseminirati u obliku aerosola, sitnih kapljica ili praha. Toksinsko oružje se može koristiti za strateške i taktičke operacije. Neki od toksina se mogu uporabiti za kontaminaciju velikih površina i do stotine četvornih kilometara, ali većina toksina je učinkovita kod pokrivanja površine od nekoliko četvornih kilometara. Mikotoksinski trihotecen-T2 djeluje i preko kože odnosno difundira kroz kožu u krvotok (kao kožni bojni otrovi). Pored svojih strateških i taktičkih visoko vrijednih značajki, toksini su idealno oružje za skrivenu uporabu kod terorističkih akcija. Saboteri mogu kontaminirati ventilacijske sustave, vodu za piće i izvore hrane, i time prouzročiti velike žrtve. Neki toksini su osjetljivi na kiseline, neki na alkalne otopine, a neki na toplinu što se uzima u obzir kod dekontaminacijskih postupaka. Opće prihvaćeni postupak dekontaminacije je uklanjanje toksina pranjem uporabom četke, sapuna i vode. Voda i hrana koji su u zatvorenim posudama su zaštićeni i mogu se koristiti iza dekontaminacije vanjske površine posuda.

Danas se analiziraju i ispituju sinergistički učinci toksina da bi se spajanjem dva i više toksina dobili još toksičniji agensi pa se može govoriti o razvoju "binarnog toksinskog oružja", kao što su npr. danas poznate kombinacije aflatoksin B1 + trichotecen T-2, SEB + E. coli enterotoksin i antraks toksin nastao miješanjem tri proteinske komponente.

BIOREGULATORI

Bioregulatori ili modulatori (molekularni agensi) su biokemijske tvari kao što su peptidi koji se normalno nalaze u organizmu čovjeka i životinja. Zadnjih godina se mnogo diskutiralo o riziku od bioregulatora koji su se uključivali u bojne otrove i koristili na isti način. Ovi tipovi tvari nisu svrstavani u skupinu toksina, ali su grupirani s njima zbog njihove slične uporabe. Razvojem biotehnologije raste i interes za peptidne bioregulate koji se mogu naći u ofenzivnim vojnim biološkim programima nekih država. Ove tvari su vrlo slične onima koje se mogu normalno naći u tijelu i mogu uzrokovati bol (algogene tvari), djelovati anestetski ili sniziti krvni tlak. Značajka ovih tvari je da djeluju u ekstremno malim dozama i uzrokuju nagli i brz učinak (14).

Mnogi biološki agensi mogu uzrokovati bolest pa zbog toga predstavljaju prijetnju za civilnu populaciju. Ovaj rad osigurava temeljne informacije o bioregulatorima vojnim i javno-zdravstvenim djelatnicima na svim razinama u cilju zaštite od ovakvih agensa.

Više od dvadeset posljednjih godina s razvojem neurološke znanosti nastupa eksplozija znanja o tzv. receptorskim sustavima na živčanoj stanici. Ta znanja su od velike važnosti u razumijevanju prijenosa tvari koji predstavljaju kemijski transmiter drugih živčanih stanica. Ove tvari su transmitteri ili prijenosnici živčanih impulsa i mogu mijenjati živčani odgovor. Neke od ovih tvari se mogu proizvoditi kemijskom sintezom. Očigledan je izniman porast znanja o farmakologiji i strukturnoj biologiji receptora zadnjih deset godina. Također je evidentan napredak u *in vitro* sintezi peptida i komercijalnoj proizvodnji u velikim količinama raznih farmaceutskih peptida koji su lako dostupni (15).

Sintetski derivati ili neznatno izmijenjeni oblici ovih tvari mogu imati drastično izmijenjen toksični učinak što bi bilo od velike važnosti u razvijanju novih agensa. U posljednje vrijeme je uočljiv nagli napredak u otkrivanju novih bioregulatora osobito onih za onesposobljavanje, razumijevanje njihovog mehanizma djelovanja i putova proizvodnje sintezom. Neke od ovih tvari mogu biti više stotina puta učinkovitije i otrovnije od tradicionalnih bojnih otrova.

Neke od važnih značajki novih bioregulatora koje su važne za vojnu uporabu su nova mjesta toksičnog djelovanja, brz i specifičan učinak, prolaz kroz filter zaštitne maske i zaštitnu opremu, nedostupan učinkovit medicinski tretman i terapija, nemogućnost

brze detekcije u realnom vremenu te učinkovito fizičko onesposobljavanje za vojne potrebe.

Njihov potencijal aktivnosti pokriva glavne životne funkcije i mentalne procese. U organizmu se proizvode u vrlo malim količinama koje su dostatne za normalne homeostatske funkcije tijela. Ovo otvara nesagledive mogućnosti uporabe toksičnih tvari koje se ne može pronaći u organizmu čovjeka. Znači u slučaju tajne uporabe ovakvih tvari dolazimo do tzv. idealnog načina ubijanja ili "ubijanja bez tragova".

Za sada nema popisa bioregulatora u pregovorima o zabrani biološkog i toksinskog oružja. Budući posao u istraživanju bioloških aktivnosti i svih odredaba Protokola Konvencije o zabrani biološkog i toksinskog oružja (BTWC) temeljit će se na popisu bioregulatora.

S porastom proizvodnje toksina počinje istraživanje na sintezi bioregulatora koji se inače nalaze u prirodnim tvarima (peptidi), a sudjeluju u fiziološkim i neurološkim aktivnostima u organizmu. Bioregulatori su slični toksinima, ali ne pripadaju toksinima, već se svrstavaju s njima jer im je uporaba slična kao kod bioloških i toksinskih ratnih agensa. Te tvari imaju analgetsko i anestetsko djelovanje, a utječu i na krvni tlak.

Bioregulatori su brojni humani polipeptidi niske molekulske mase koji imaju važnu ulogu u regulaciji bioloških aktivnosti. Mozak i probavni trakt sadrže mnogobrojne peptide koji obavljaju različite aktivnosti u endokrinom sustavu, središnjem živčanom sustavu i perifernom živčanom sustavu. Neke od peptida sadržavaju i pluća sisavaca. Ove tvari čine novu skupinu neurotransmitera (ili "hormona") čija je biološka aktivnost i mehanizam djelovanja vrlo učinkovit i snažan. To su vrlo male molekule koje su sastavljene od 5-30 aminokiselina (tablica 4).

Tablica 4 Bioregulacijske tvari i broj aminokiselina u molekul

Bioregulatori	Broj aminokiselina
Endorfini	31
Somatostatin	14
Bombesin	14
Neurotenzin	10
Bradikinin	9
Vazopresin	9
Oksitocin	9
Angiotenzin I, II i III	10, 8 i 7
Enkefalini	5
Tvar P	36

Biološko poluvrijeme života malih peptida i peptidnih hormona (ili bioregulatora) u organizmu se mjeri u minutama. Mikroinkapsulacijska tehnologija može zaštititi bioregulatora i produžiti im biološko poluvrijeme života. Molekule bioregulatora se prirodno nalaze u organizmu u vrlo malim količinama, a uloga im je kontrola različitih bioloških i fizioloških sustava.

Uporaba većih količina ovih tvari (npr. inhalacijom aerosola ovih tvari slično kao kod bojnih otrova) može bitno narušiti prirodno kontrolirane mehanizme u organizmu i na taj način izazvati onesposobljavanje i smrt. Primjerice u slučaju inhalacijske ekspozicije većih količina bioregulatora koji normalno reguliraju konstrikciju bronhalnog stabla, nastat će velike smetnje u disanju žrtve, a simptomi mogu uzrokovati onesposobljavanje ili smrt u kratkom vremenu.

Uporaba ovih tvari zajedno s nekim visokotoksičnim kemijskim tvarima uzrokovat će još snažniji učinak zbog sinergističkog djelovanja. Bioregulatori nisu hlapljive tvari, a da bi bili učinkoviti trebaju se primijeniti u obliku respirabilnog aerosola. Zbog toga su bitno ograničene mogućnosti njihove proizvodnje kao oružja za masovno uništenje. Slično toksinima, toksičnost ili učinkovitost bioregulatora izražava se LD_{50} i ED_{50} (<0.0025 mg/kg). Mišljenja su da je manje moguće koristiti bioregulatora u velikim količinama za pokrivanje većih područja kao što je to moguće s toksinima.

Tablica 5 Bioregulatori vojnog značaja

Endorfini (α , β , i δ -Endorfin)
Tvar P (SP) (Neurokinin)
Endotelini (ET-1, ET-2, ET-3) ili
Sarafotoksini (S6a, S6b)
Bradikinin (Kinin-9, Kallidin)
Vazopresin (VP)
Angiotenzini (I, II, III)
Enkefalini (<i>Leu</i> - i <i>Met</i> -enkefalin)
Somatostatin (SS, SRIF)
Bombesin (BN)
Neurotensin
Oksitocin
Tiroliberini (Thyrotropin)
Faktori oslobađanja histamina (HRF):
- inhibirajući faktor oslobađanja histamina (HRIF)
- CTAP-3 Beta-Thromboglobulin (Beta-TG)
- faktor aktivacije neutrofila (NAF)
Neurokinin A (NKA)/Substance K (SK)
Neurokinin B (NKB)/Neuromedin K
Neuropeptid Y (NPY)

Bioregulatori su idealni ratni agensi za sabotaze i terorističke akcije protiv skupina važnih ljudi koji su bitni za obranu kao što su zapovjedništva, piloti i sl. (tablica 5).

Mnogo je nejasnoća u pogledu primjene bioregulatora kao bioloških ratnih agensa u oružanim sustavima. Biološko ili toksinsko oružje za masovno uništavanje je oružje koje može uzrokovati bolest i smrt u velikim razmjerima koji prelaze i vojne i civilne infrastrukturne mogućnosti države. Razvoj uporabe virusnih i bakterijskih vektora ili prijenosnika daje mogućnosti prijenosa bioregulatora ili bioregulacijskih gena do pojedinih ciljnih tkiva čovjeka. Vrlo je teško naći u dostupnoj literaturi podatke za sve bioregulatora, a posebno za kriterij: agens poznat kao ratni agens već proizveden, uskladišten ili uporabljen. Mnogi biološki agensi, a u ovom slučaju bioregulatori, mogu uzrokovati bolest kad se uporabe protiv civilnog stanovništva.

Uporaba većih količina ovih tvari može bitno narušiti prirodno kontrolirane mehanizme u organizmu i na taj način izazvati onesposobljavanje i smrt. Primjerice u slučaju inhalacijske ekspozicije većih količina bioregulatora koji normalno reguliraju konstrikciju bronhalnog stabla, nastat će velike smetnje u disanju žrtve, a simptomi mogu uzrokovati onesposobljavanje ili smrt u kratkom vremenu. Uporaba ovih tvari zajedno s nekim visokotoksičnim kemijskim tvarima uzrokovat će još snažniji učinak zbog sinergističkog djelovanja. Bioregulatori su idealni ratni agensi za sabotaze i terorističke akcije.

Protutoksinska obrana se sastoji u imunizaciji protiv nekih proteinskih toksina (koristi se toksoid ili oslabljeni oblik toksina), ali to nije moguće kod toksina niske molekulske mase. Zbog izrazite toksičnosti neophodna je brza detekcija toksina. Vrlo je teško danas razviti detektore za brzo otkrivanje toksina iz nekoliko razloga.

Jedan od njih je taj što se većina toksina primjenjuje u aerosolnom respirabilnom obliku, a ne u obliku kapljica kao kemijski ratni agensi koji padaju na tlo i neko vrijeme se isparavaju. Brza dijagnostika kod otrovanja toksinima je pretežno klinička i određuje se prema duljini latencije, znacima i simptomima te diferencijalnoj dijagnozi. Imunološki i analitički testovi i pretrage su učinkoviti za većinu toksina. Konačna laboratorijska dijagnoza može se donijeti nakon 48-72 sata, ali se danas za neke toksine zna da se mogu dijagnosticirati unutar 30 minuta. Kod manje toksičnih toksina dijagnoza se postavlja na temelju imunoloških testova i otkrivanja IgM i IgG

kod pacijenata koji su preživjeli otrovanje. Ovo je posredno otkrivanje toksinskih agensa, ali unutar 2-3 tjedna nakon ekspozicije. Imunološke i analitičke analize za otkrivanje toksina su danas dostupne i učinkovite. To je u prvom redu ELISA analiza ili reakcija vezanja na receptore koja je vrlo osjetljiva (od 1-10 ng/ml) unutar 4 sata. Analitičke kemijske metode su osjetljive u količinama od mg do ng, ali su nešto brže. PCR-tehnika ili reakcija vezanja polimeraze je vrlo osjetljiva analiza kojom se može otkriti i detektirati genetički materijal DNA bilo kojeg živog organizma. Najnovija metoda za otkrivanje toksina je kombinacija imunoloških analiza sa PCR-om kojima se može detektirati ekstremno male količine toksina.

Neki od toksina imaju brzo toksično djelovanje tako da i nema vremena za terapiju. Neki pak uzrokuju nešto simptoma ili su bez kliničkih znakova, ali uzrokuju ireverzibilne biološke promjene unutar nekoliko minuta do nekoliko sati što često završava smrću za nekoliko dana. Na sreću, većina najtoksičnijih bakterijskih proteinskih toksina djeluju polako i ako se dijagnosticiraju na vrijeme, terapija je uspješna unutar 12-24 sata iza ekspozicije.

Najbolja i najučinkovitija je aktivna profilaksa za većinu toksinskih ratnih agensa, a to je cijepljenje (imunizacija). Najveći broj toksina ima visoki stupanj imunogeneze tj. organizam izložen malim dozama inaktiviranog ili oslabljenog toksina će proizvesti protutijela koja će ga zaštititi od akutne ekspozicije tom toksinu. Međutim, vrijeme potrebno za stvaranje protutijela protiv toksina je dugo i traje u većini slučajeva 4-6 tjedana do 3-4 mjeseca pa i dulje. Cijepljenje je također potrebno provoditi više puta (docjepljivati).

Moguće je ipak smanjiti vrijeme odgovora na cijepljenje. Antigeni koji potiču organizam na proizvodnju protutijela, mogu biti mikroinkapsulirani ili umotani u sintetičku polimernu ovojnicu koja kad se postupno otvara, oslobađa antigen ili cjepivo. Na taj način se danas može proizvesti tzv. vremenski djelujuće cjepivo koje se daje u jednoj injekciji kao prvo cijepljenje, ali se imunizacija provodi postupnim vremenskim oslobađanjem cjepiva što predstavlja docijepljenje nakon 2 tjedna te nakon 10 tjedana.

Danas se u mnogim zemljama razvija cijepljenje u sklopu medicinskih bioloških obrambenih znanstvenih programa koje se sastoji u davanju prve doze i docijepljenja nakon 2 tjedna. Imunološki sustav daje odgovor preko tzv. stanica koje pamte (engl. *memory cells*) i zaštita traje više mjeseci pa i više godina. Imunitet se postiže brzo i vrijeme za docijepljenje

traje dugo što je i cilj. Tako je vrijeme za docijepljenje za botulin toksoid zadovoljavajuće dugo (24 mjeseca), a imunitet je potpun.

Pasivna profilaksa je davanje seruma ili protutijela koja se dobiju od životinja ili drugih ljudi, a daju se onim osobama koje ne mogu proizvesti vlastita protutijela. Pretretman i tretman nakon ekspozicije protutijelima humanog ili životinjskog podrijetla je učinkovit za oko 35 toksina. Pasivna imunoterapija je tretman s drugima, a ne samo vlastitim protutijelima i vrlo je uspješna kod otrovanja botulin toksinom ako se započne unutar 24 sata nakon aerosolne inhalacijske ekspozicije visokim dozama. Humana monoklonska protutijela ili kokteli s dva ili više monoklonskih protutijela je buduća pasivna imunoterapija.

Medicinski tretman i terapija specifičnim lijekovima protiv toksina se svode na neposredno djelovanje lijekova protiv toksičnog djelovanja na živu stanicu. Danas nije razvijena specifična antidotna terapija za toksine i toksinske ratne agense. Simptomatska terapija je nažalost kod dosta bitnih toksina jedina moguća terapija pa je zbog toga i bitna. Umjetna ventilacija je na primjer vrlo bitna kod otrovanja botulin toksinom i saksitoksinom.

Dekontaminacija toksina je relativno nebitna nakon toksinskog aerosolnog napada. Prema dosadašnjim iskustvima kod ekspozicije respirabilnom aerosolu dekontaminaciju je potrebno obaviti, a dovoljna je osobna dekontaminacija nakon toksinskog napada kao prevencija kod sekundarnog aerosola. Dekontaminacija se obavlja sredstvima za kemijsku dekontaminaciju, pa će 0,1-0,2 %-tna otopina natrijeva hipoklorita kroz 10 minuta djelovanja uništiti većinu toksinskih ratnih agensa.

Dekontaminacija vode kontaminirane toksinima slična je onoj kod kemijskih ratnih agensa. Većinu najtoksičnijih toksina uništava se kloriranjem vode. Sistem obrnute osmoze je pogodan u dekontaminaciji za ricin, mikrocistin, T-2 trichotecen, saksitoksin i botulin toksin. Kloriranje vode klornim preparatom (5 mg/L ili 5 ppm) u trajanju od 30 minuta uništava botulin toksin, ali ne i ricin, mikrocistin, T-2 i saksitoksin. Koagulacijska metoda također ne može iz vode izdvojiti ricin, mikrocistin, T-2 i saksitoksin.

PSIHOLOŠKI UČINCI BIOLOŠKOG TERORIZMA

Često su psihološki učinci terorizma mnogostruko veći od posljedica samog terorističkog čina. Iako je

teroristički napad na Svjetski trgovinski centar i Pentagon u SAD-a 11. rujna 2001. najveći do sada izveden u povijesti, uzrokovao pogibiju velikog broja ljudi i ogromnu materijalnu štetu, psihološki učinak na pučanstvo SAD-a je veći. Zbog toga su danas u sanaciju psiholoških posljedica ovog napada uključeni mnogobrojni stručnjaci i organizacije u SAD-a.

Teroristička uporaba oružja za masovno uništavanje ima visoki potencijal uzrokovanja psihološkog stresa kod žrtava i spasilaca.

Zbog svega toga psihološki tretman velikog broja psiho-traumatiziranih mora biti dio plana odgovora i oporavka nakon ovakvih terorističkih akcija. Ponovne analize i skrb mentalnog zdravlja su neophodni za većinu sudionika terorističkog čina duže vrijeme.

Panika je često tijekom terorističkog čina tako destruktivna i masovna da predstavlja, ako ne glavnu, a ono sigurno jednu od glavnih prepreka uspješnoj organizaciji zbrinjavanja velikog broja ozlijeđenih i pružanja žurnog odgovora. Burna nekontrolirana reakcija zahvaća manji broj sudionika u terorističkom činu i njima treba prvima pružiti skrb. Kod većine dominiraju psihosomatski simptomi što kasnije (unutar mjesec dana) prelazi u akutni stresni poremećaj. Posttraumatski stresni poremećaj kao kasnija posljedica može zahvatiti većinu sudionika terorističkog čina.

Jedan od glavnih čimbenika koji pogoršavaju psihološke posljedice terorističkog čina je nikakvo upozorenje da će se takvo nešto dogoditi. To je nažalost i glavni cilj i način izvođenja terorističkog čina. Svaka teroristička akcija uzrokuje intenzivni emocionalni doživljaj i predstavlja životnu opasnost za većinu sudionika u istom. Većina sudionika bilo kao žrtve ili kao spasitelji se ekstremno psihološki iscrpljuju i svjedoci su stravičnih slika te su izloženi često i smrtonosnim dozama toksičnih tvari.

Posttraumatski stresni poremećaj je posljedica sudjelovanja u terorističkom činu slično kao i u nekoj ratnoj situaciji u kojima je pojedinac doživio ekstremno psihološko opterećenje. Simptomi ovog stresnog poremećaja su raznovrsni i većina psiho-traumatiziranih ima većinu gore spomenutih tegoba. Dominiraju ipak ekstremno ponašanje i reakcije, izrazita tjeskoba, noćne more uz užasne snove i nesanice. Često pojedinac s PTSP-om ne želi zaspati jer ga je strah snova. Najopasniji su ipak povlačenje u sebe, apatija i izrazita depresija te izolacija od okoline što se često ne prepoznaje pa se ne pruža adekvatna mentalna skrb. Većina ovakvih pojedinaca pokušaja i nažalost uspijeva učiniti samoubojstvo. Česta je

također i zlouporaba zabranjenih sredstava kao što su droge, alkohol i lijekovi, a nažalost i nasilje u obitelji. Posljedice PTSP-a kod spasilaca iza terorističkog čina u Oklahoma Cityju su povećani broj razvoda i uporabe alkohola. Također je šest sudionika u spašavanju izvršilo samoubojstvo, a preko 30 ih je pokušalo učiniti samoubojstvo. Izrazita rezignacija je zahvatila čak 70 % spasilaca s psima tragačima. Ovi podaci upozoravaju na to da je neophodno potrebna stalna mentalna skrb za sve sudionike nakon terorističkog čina.

LITERATURA

1. Halstead SB, Hoeprich PD, Jordan MC, Ronald AR. Infectious diseases: A treatise of infectious processes 1994;919-23.
2. World Health Organization (WHO). Geographical distribution of arthropod-borne diseases and their principal vectors (WHO/VBC/89.967). Geneva: WHO; 1989. str. 138-48.
3. Culliton BJ. Emerging viruses, emerging threat. *Science* 1990;247:279- 80.
4. Murphy FA. Infectious diseases. *Adv Vir Res* 1994;43: 2-52.
5. Rogers DJ, Packer MJ. Vector-borne diseases, models, and global change. *Lancet* 1993;342:1282-4.
6. Berkelman RL, Bryan RT, Osterholm MT, LeDuc JW, Hughes JM. Infectious disease surveillance: a crumbling foundation. *Science* 1994;264:368-70.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Addressing emerging infectious disease threats: a prevention strategy for the United States. Atlanta (GA): US Dept. of Health and Human Services, Public Health Service; 1994.
8. Morse SS. Examining the origins of emerging viruses. U: Morse SS, urednik. *Emerging viruses*. New York (NY): Oxford University Press; 1993. str. 10-28.
9. Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. Principles and practice of infectious diseases. 3rd edition. New York (NY): Churchill Livingstone; 1990.
10. Morse SS, Schluenderberg A. Emerging viruses: the evolution of viruses and viral diseases. *J Infect Dis* 1990;162:1-7.
11. Hamilton M. Toxin and mid-spectrum agents. *The ASA Newsletter* 1998;93(3).
12. Geissler, E., *Biological and toxin weapons today*. Oxford: SIPRI, Oxford University Press; 1986.
13. Sakaguchi G. Clostridium botulinum toxins. *Pharmacol Ther* 1994;19:165.
14. Rozengurt E. Neuropeptides as cellular growth factors: Role of multiple signaling pathways. *Eur J Clin Invest* 1991;21:123-34.
15. Moore GJ. Designing peptide mimetics. *Trends Pharmacol Sci* 1994;15:124-9.

Summary

BIOLOGICAL AND TOXIN WEAPONS - BIOTERRORISM

The use of biological agents and toxins in warfare and terrorism has a long history. Human, animal and plant pathogens and toxins can cause disease and can be used as a threat to humans, animals and staple crops. The same is true for biological agents. Although the use of biological agents and toxins in military conflicts has been a concern of military communities for many years, several recent events have increased the awareness of terrorist use of these weapons against civilian population. A Mass Casualty Biological (Toxin) Weapon (MCBTW) is any biological and toxin weapon capable of causing death or disease on a large scale, such that the military or civilian infrastructure of the state or organization being attacked is overwhelmed. A militarily significant (or terrorist) weapon is any weapon capable of affecting, directly or indirectly, that is, physically or psychologically, the outcome of a military operation. Although many biological agents such as toxins and bioregulators can be used to cause diseases, there are only a few that can truly threaten civilian populations on a large scale. Bioregulators or modulators are biochemical compounds, such as peptides, that occur naturally in organisms. They are a new class of weapons that can damage nervous system, alter moods, trigger psychological changes and kill. The potential military or terrorist use of bioregulators is similar to that of toxins. Some of these compounds are several hundred times more potent than traditional chemical warfare agents. Important features and military advantages of new bioregulators are novel sites of toxic action; rapid and specific effects; penetration of protective filters and equipment, and militarily effective physical incapacitation. This overview of biological agents and toxins is largely intended to help healthcare providers on all levels to make decisions in protecting general population from these agents.

KEY WORDS: *biological agents, bioregulators, medical treatment, protection, decontamination, toxin agents, warfare*

REQUESTS FOR REPRINTS:

Dr. sc. Slavko Bokan
Ul. Brune Bušića 13, HR-10020 Zagreb
E-mail: slavko.bokan@zg.hinet.hr