

Jadwiga Matras, Lidia Mizak

## CHOROBOTWÓRCZOŚĆ I DIAGNOSTYKA BACILLUS ANTHRACIS

Ośrodek Badań Weterynaryjnych  
Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Puławach  
Szef Ośrodka: płk doc. dr hab. M. Bartoszcze

*Wąglik wywołany jest przez przetrwalnikujące, tlenowe laseczki Bacillus anthracis i zaliczany jest do groźnych chorób ludzi i zwierząt. Na świecie istnieją obszary, gdzie występuje on w postaci endemicznej. W krajach tych diagnostyka wąglikowa oraz profilaktyka najczęściej są prowadzone prawidłowo. W Polsce wąglik jest rzadko notowaną chorobą i przepisy dotyczące wykrywania B. anthracis nie były zmieniane od lat.*

*W przeglądowej pracy uwzględniono najnowszą literaturę i zaprezentowano aktualny stan wiedzy na temat choroby wąglikowej u ludzi i zwierząt.*

### WSTĘP

Wąglik jest groźną chorobą ludzi i zwierząt hodowlanych oraz dzikich. Wywołany jest przez gramdodatnią, tlenową laseczkę *Bacillus anthracis*.

W literaturze wąglik opisywany jest pod wieloma nazwami. Karbunkuł, zapalenie śledziony, czarna krosta, karbunkuł złośliwy, choroba gałganiarzy, zaraza syberyjska. W średniowieczu tereny występowania choroby określano jako „diabelskie pola” lub „przeklęte łąki”.

Pierwsze naukowe opracowania dotyczące wąglikowatych pochodzą od Roberta Kocha i Ludwika Pasteura. Koch swoje badania nad wąglikiem rozpoczął w 1872 roku. Wyizolował drobnoustrój, określił jego chorobotwórcze właściwości, opisał proces przetrwalnikowania i zwrócił uwagę na rolę endospor w rozprzestrzenianiu się choroby (16, 17). Pasteur wykazał, że laseczki wąglikowatych w pewnych określonych warunkach tracą cechy chorobotwórczości (zjadliwości), zachowując właściwości uodparniające przeciwko chorobie. W 1881 r. otrzymał atenuowaną szczepionkę i rozpoczął uodparnianie krów przeciw wąglikowi, potwierdzając wyniki prac Kocha.

### WYSTĘPOWANIE ENDOSPOR WĄGLIKA W ŚRODOWISKU NATURALNYM

Wąglik nadal stanowi w wielu krajach poważne zagrożenie dla ludzi i zwierząt. Zachorowania mogą wystąpić nawet po 60 latach na terenie uznanym za nieendemiczny. Warunkami sprzyjającymi do utrzymywania się żywotnych przetrwalników wąglikowatych

są: żyzność gleby, odczyn zasadowy, duża wilgotność, optymalna temperatura i obecność jonów wapnia (10, 26).

W środowisku naturalnym laseczki wąglika występują jedynie w formie endospor (3, 10, 16, 17). Dużym zagrożeniem wąglikowym pozostają tereny czynnych i byłych garbarni oraz zakładów przetwarzających surowce zwierzęce. Tereny tych obiektów powinny być pod szczególnym nadzorem sanitarnym, a próbki gleby z miejsc przylegających do systemu wyprowadzającego ścieki, okresowo badane. Glebę do badań pobiera się z kilku miejsc, na głębokości 10 cm. Za dopuszczalną i nie budzącą obaw przyjmuje się obecność do 5 endospor w 100 g gleby. Należy przypomnieć, że proces garbowania nie niszczy przetrwalników wąglika (10, 33).

W próbkach wody ze zbiorników wodnych, znajdujących się na terenach endemicznych, rzadko wykrywa się przetrwalniki wąglika. Izolowano natomiast laseczki *B. anthracis* od kaczek i ryb zasiedlających badane tereny wodne (39).

Rozprzestrzenianiu się wąglika na świecie sprzyja import pasz, skór i włosów z krajów o niskiej kulturze hodowlanej (2, 3, 10).

Największą zachorowalność na wąglik notuje się w porze letnio-jesiennej, po opadach deszczu. Następuje wówczas wypłukiwanie przetrwalników z głębszych warstw gleby na zewnątrz. Do zachorowania zwierząt na terenach endemicznych może również dochodzić podczas trwającej suszy, kiedy trawa wyjadana jest przez zwierzęta „z ziemi” (16, 19).

Pasza i woda, uważane są powszechnie za najczęstsze źródła, odpowiedzialne za zakażenie wąglikiem zwierząt.

### WĄGLIK U ZWIERZĄT

Laseczka wąglika jest chorobotwórcza dla wielu gatunków zwierząt domowych i dzikich, głównie trawożernych.

Epidemiologia zakażeń wąglikowych wiąże się ściśle ze zjawiskiem przechodzenia form wegetatywnych laseczek wąglikowych w formę przetrwalników. Bakterie wydalone z organizmu z kałem, moczem, krwią wydostającą się z naturalnych otworów ciała, przetrwalnikują w obecności tlenu atmosferycznego i przenikają do gleby. Zakażeniu ulegają głównie bydło, konie, ptactwo domowe, antylopy, bawoły afrykańskie, lwy, dzikie psy afrykańskie, owce, świnie. Psy domowe są odporne na wąglik (16, 25). U zwierząt najczęściej stwierdza się jelitową postać wąglika.

Wrotami zakażenia jest przewód pokarmowy. Choroba ma bardzo ostry przebieg. Zejście śmiertelne następuje po 1–3 dniach, z objawami charakterystycznymi dla posocznicy. Ciało zwierzęcia jest wiotkie (brak stężenia pośmiertnego). Z naturalnych otworów ciała wypływa ciemnoczerwona (lakowa) niekrzepnąca krew. Charakterystyczny jest wygląd śledziony. Jest ona koloru ciemnoczerwonego i wyraźnie powiększona, co często doprowadza do pęknięcia jej torebki. Pozostałe narządy są niezmienione. Mięso nie wykazuje oznak psucia się (brak odoru) (3, 34).

Od czasu wprowadzenia szczepień ochronnych i przestrzegania zasad zwalczania wąglika, stał się on chorobą rzadko występującą w krajach o dobrze zorganizowanej służbie weterynaryjnej. Występuje nadal w regionach, gdzie hodowla prowadzona jest na dużą skalę w sposób prymitywny (Syberia, kraje azjatyckie) lub gdzie istnieją obiektywne trudności zwalczania wąglika (kraje afrykańskie) (38).

W instrukcjach dotyczących postępowania z chorymi na wążlik zwierzętami nie poleca się ich leczenia, padle zwierzęta najlepiej spalić lub zakopać na głębokości ponad 2 m. Nie należy wykonywać sekcji, a w każdym przypadku przeprowadzić dokładny wywiad epizootyczny.

### WĄGLIK U LUDZI

Zakażenie wążlikiem występuje u ludzi pozostających w kontakcie z chorymi zwierzętami lub produktami od nich pochodzącymi. Grupę tą stanowią rzeźnicy, hodowcy, personel weterynaryjny, garbarze, pracownicy przemysłu związanego z obróbką skór, wełny, włosia (3, 34).

U ludzi wążlik występuje w jednej z trzech postaci klinicznych: skórnej, płucnej lub jelitowej (13, 32).

Na wążlikowe zapalenie płuc mogą chorować pracownicy fabryk przetwarzających surowiec zakażony endosporami wążlika. Postać jelitowa występuje sporadycznie (głównie Chiny, kraje afrykańskie oraz obszar byłego ZSRR). Okres wylegania wymienionych dwóch postaci wynosi 2–3 dni. Chorobie towarzyszy bardzo wysoka temperatura (ponad 40°C), bóle głowy, wymioty, nagle pogorszenie się ogólnej kondycji zdrowotnej. W płynie mózgowo-rdzeniowym stwierdza się zwiększoną liczbę erytrocytów i leukocytów oraz gramdodatnie laseczki z otoczkami. Choroba kończy się najczęściej zgonem, o ile szybko nie będzie włączona kuracja antybiotykowa.

Najczęściej u ludzi wążlik występuje w postaci skórnej, jako miejscowe schorzenie skóry i tkanki podskórnej. Powstałe zmiany określa się nazwą karbunkuł lub czarna krosta.

Okres wylegania wążlika skórniego wynosi na ogół 4–5 dni od momentu zakażenia. Początkowo pojawia się grudka, która szybko przekształca się w pęcherzyk, a następnie w krostę i strup otoczony niebolesnym wałem z pęcherzami. Wążlik skórny może wystąpić na rękach, twarzy, szyi, nogach, stopach, a także na języku i migdałkach. Zmiany nie zawsze przybierają postać czarnej krosty. Na ogół nie występują zmiany ropne. Mogą się one pojawiać w późniejszym okresie jako efekt nadkażenia rany innymi drobnoustrojami. W postaci skórnej czasami może dojść do samowyleczenia. Antybiotyki podaje się w przypadku powstania zmian miejscowych, po pobraniu materiału do badań bakteriologicznych i serologicznych (1, 6, 37).

Przechorowanie wążlika pozostawia u ludzi odporność swoistą przez okres 1 roku.

### WYSTĘPOWANIE WĄGLIKA NA ŚWIECIE

W Polsce w 1994 r. zgłoszono kilka przypadków jelitowej i płucnej postaci wążlika u jałówki i świń, z okolic Buska oraz postać skórnią u rzeźnika, pozostającego w kontakcie z tymi zwierzętami. Badania diagnostyczne potwierdzono testem termoprecypitacji Ascoliego (2). W 1995 roku zgłoszono 4 przypadki postaci skórnej u ludzi, a w 1996 r. – 3. Zachorowania wystąpiły w województwach: białskim, łomżyńskim i szczecińskim (27).

Duże zagrożenie stanowi transport produktów pochodzenia zwierzęcego, w tym głównie skór surowych z Europy Wschodniej do innych krajów przez terytorium Polski. W 1997 r. w badanych próbkach dużej partii skór bydlęcych, przewożonych

z Ukrainy do Czech, izolowano w Ośrodku Badań Weterynaryjnych Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Puławach endospory *B. anthracis*.

W niektórych rejonach Rosji wąglik nadal jest dużym problemem w weterynarii i medycynie. Rocznie zgłaszanych jest około 600 przypadków zachorowań u ludzi, najczęściej postaci skórnej wąglika. Najwięcej ognisk endemicznych stwierdza się w Kazachstanie (4).

Władze sanitarne przypisują ten stan niskiej higienie ludności, niewystarczającym szczepieniom ludzi i zwierząt, źle prowadzonej diagnostyce wąglika i niskiej edukacji sanitarnej hodowców.

W 1980 r. opinia światowa została poinformowana o zgonach ludzi na postać płucną wąglika w Swierdłowsku i okolicach (obecnie Jekaterinburg) na Syberii. Po przeprowadzonym dochodzeniu epidemiologicznym przez komisję amerykańskich ekspertów, okazało się, że zachorowania były wynikiem awarii w miejscowym wojskowym obiekcie mikrobiologicznym (24).

Na Ukrainie rzadko są notowane przypadki wąglika u ludzi, natomiast często chorują zwierzęta. Przeprowadzono tu systematyczne badania środowiskowe. W latach 1987–1995 w przebadanych 1342 próbkach gleby z 95 zagrożonych terenów, endospory *B. anthracis* izolowano w 3,2%. Jak już wspomniano, wykrywalność na tym poziomie nie powinna stanowić niebezpieczeństwa dla ludzi. Tereny, na których izolowane są przetrwalniki wąglika, wyłącza się z użytkowania hodowlanego bydła (4, 36).

W Turcji, na przestrzeni lat 1990–1994, zarejestrowano 1779 przypadków skórnej postaci wąglika u ludzi (5). Na terenach o najwyższej zachorowalności prowadzone są coroczne, bezpłatne szczepienia ludzi i zwierząt.

W krajach Europy Zachodniej przypadki wąglika należą do rzadkości, a choroba uznawana jest za importowaną z surowcami pochodzenia zwierzęcego (8, 29).

W Indiach wąglik jest chorobą pospolitą i nadal rejestrowane są liczne zachorowania u ludzi i zwierząt. Obserwuje się tam występowanie nowych obszarów endemicznych, na których władze sanitarne nie mogą sobie poradzić z wąglikiem (brak funduszy, rozproszona hodowla itp.) (18).

Wąglik stanowi problem w krajach afrykańskich, gdzie nie jest możliwe objęcie kontrolą sanitarną dzikich zwierząt. Profilaktyka ogranicza się często do szkoleń na temat grzebania padłych zwierząt, które zazwyczaj są rozwlekane przez hieny.

Na terenach afrykańskich parków narodowych zachorowalność zwierząt jest ograniczana poprzez podejmowanie próby szczepień przeprowadzanych przy pomocy szczepionek–pocisków, wystrzeliwanych ze specjalnie skonstruowanych karabinków (19).

Wąglik jest chorobą często stwierdzaną w Chinach. Opisywano tam m.in. przypadki skórnej postaci wąglika u ludzi, zakażonych przez owady oraz u noworodków, nacieranych tłuszczem pochodzącym od chorych zwierząt (39).

W Paryżu siedzibę ma Międzynarodowe Biuro Zwalczenia Epizootii, gdzie należy zgłaszać przypadki wąglika u ludzi i zwierząt, tereny uznawane za endemiczne, produkcję szczepionki przeciwwąglikowej oraz prace doświadczalne prowadzone z wąglikiem (8).

## DIAGNOSTYKA WĄGLIKA

Diagnostyka mikrobiologiczna nie przedstawia większego problemu i prowadzi się ją według ogólnie przyjętych metod.

Badanie materiału zanieczyszczonego innymi drobnoustrojami (mączka kostna, sierść, skóry, próbki gleby) wymaga wstępnego przygotowania próby.

W diagnostyce *B. anthracis* dużym utrudnieniem jest znaczne podobieństwo genotypowe, fenotypowe i biochemiczne z innymi gatunkami rodzaju *Bacillus*: *B. cereus*, *B. thuringensis*, *B. mycoides*, *B. medusae* (3, 11).

Diagnostyka węgliką powinna uwzględniać:

- ocenę mikroskopową preparatów z materiału klinicznego i z hodowli wyrosłych kolonii,
- hodowlę na podłożach,
- morfologię kolonii,
- ocenę cech biochemicznych,
- próbę biologiczną,
- przetrwalnikowanie,
- badania serologiczne.

### PREPARATY MIKROSKOPOWE

Preparaty mikroskopowe badanego materiału klinicznego barwi się metodą Grama. Obecność dużych (1–8  $\mu\text{m}$ ), gramdodatnich lasek, przypominających kij bambusa, o końcach równo uciętych, ułożonych w postaci nici, posiadających otoczkę, niekiedy wspólną dla kilku komórek, brak przetrwalników – przemawia za zakażeniem laseczką węgliką.

W preparatach wykonanych z hodowli, laseczki mogą zabarwiać się gramdodatnio lub gramujemnie, zależnie od wieku hodowli. Nie występuje otoczka i nie zawsze kształtem przypomina bambus. W hodowli 24-godzinnej stwierdza się przetrwalniki, występujące w komórce centralnie, nie powodujące jej zniekształcenia. Duża ich część uwalniana jest poza komórką.

### PODŁOŻA HODOWLANE

Do hodowli *B. anthracis* z prób środowiskowych polecane są m.in. podłoża płynne – PLETB i stałe PLETA. Zawierają one polimyksynę, lizozym, EDTA (wersenian sodowy), octan talu.

Najkorzystniejsze jest stosowanie jako podłoża namnażającego, półpłynnego agaru PLETA (15,25). Do posiewu materiału klinicznego można stosować agar zwykły, agar z dodatkiem 5% krwi baraniej, bulion zwykły. Na agarze z krwią laseczki węgliką nie wywołują hemolizy. Cecha ta stanowi wstępne różnicowanie z saprofitycznymi laseczkami i z *B. cereus*, które dają dużą strefę hemolizy B.

Do wykazania obecności otoczki u *B. anthracis* stosuje się podłoże agarowe, zawierające surowicę przeciwotoczkową kozią. Podczas inkubacji w atmosferze  $\text{CO}_2$  wokół kolonii posiadających otoczkę, występuje strefa zmętnienia (25).

*B. anthracis* w logarytmicznej fazie wzrostu hodowli produkuje proteazy. Do ich wykazania używa się podłoża agarowego z kazeiną. Obecność tego enzymu manifestuje się strefą przejaśnienia wokół kolonii (8).

W bulionie laseczka węgliką wyrasta już po 24 godz., w postaci błonki na powierzchni płynu. Po wstrząśnięciu probówki błonka opada na dno, tworząc osad w postaci „kłaczków waty”. Płyn nad osadem pozostaje klarowny (3, 10, 34).

Bardzo charakterystyczny dla laseczek węgliką jest wzrost na podłożu żelatynowym. Rosną one wzdłuż linii klucia, w postaci „odwróconej jodelki” bez oznak pelzania (*B. cereus*, posiadający rzęski, daje jednolite zmetnienie żelatyny).

### MORFOLOGIA KOLONII

*B. anthracis* wyrasta już po 24 godz. inkubacji w temperaturze 37°C w warunkach tlenowych. Kolonie na podłożu agarowym są duże, o średnicy 3–5 mm, szorstkie, koloru szrobiałego, matowe, o brzegach nieregularnych. Powierzchnia kolonii lekko wzniesiona, pokryta białym nalotem, co robi wrażenie oszronienia lub „tłuczonego szkła”. Pod niewielkim powiększeniem zauważa się, że składa się ona ze splotów nici, na kształt kłębowiska. Stąd powszechnie używana nazwa – głowa meduzy. Po 24 godzinach, w miarę zarodnikowania kolonie stają się maziste, lśniące i gładkie.

### OCENA CECH BIOCHEMICZNYCH

Cechy biochemiczne *B. anthracis* ocenia się m. innymi w systemie API 50 CHB (bioMerieux, Francja). Aby uwiarygodnić typowanie, należy dołączyć test API 20 E oraz uwzględnić wynik hemolizy na agarze z krwią. Inkubacja testów – 48 godz. w temp. 37°C. Poleca się odczytywać wyniki testów przez dwie osoby. Interpretację wyników prowadzi się komputerowo wg programu API-LAB (21).

### PRÓBY BIOLOGICZNE

Próby biologiczne na śwince morskiej i białej myszy stosuje się nadal jako testy potwierdzające chorobotwórczość badanych szczepów *B. anthracis*.

Wyciąg z badanego materiału lub hodowlę bulionową izolowanego szczepu podaje się pozajelitowo (podskórnie lub domięśniowo) myszce lub śwince morskiej. Śmierć następuje po 2–3 dniach. W miejscu iniekcji stwierdza się sekcyjnie stan zapalny, obrzęk galaretowaty tkanki podskórnej oraz objawy posocznicy. Preparat mikroskopowy wykonany z krwi lub śledziony wykazuje obecność gramodatnich laseczek z otoczkami. Śledziona jest przekrwiona i powiększona.

### PRZETRWAŁNIKOWANIE

Przetrwaliwanie laseczek węgliką następuje w środowisku poza organizmem żywym, przy dostępie tlenu. Szczepy węgliką wykazują różną zdolność przetrwalnikowania, lub też mogą być pozbawione tej zdolności. Utrata właściwości przetrwalnikowania nie jest związana z pozbawieniem cech chorobotwórczych. W temperatu-

rze ponad 42,5°C laseczki wąglika nie przetrwalnikują, ale po przeniesieniu do temp. niższej (około 37°C) odzyskują możliwość sporulacji (35).

### NOWE TECHNIKI DIAGNOSTYCZNE

W diagnostyce laseczek i spor wąglika wykorzystywana jest chromatografia gazowa jako metoda czuła, swoista i szybka. Stosowana bywa w dochodzeniach epidemiologicznych i epizootycznych (30).

Brak jest jednoznacznej opinii dotyczącej możliwości użycia fagów do wykrywania *B. anthracis*. Zastosowany fag „gamma” *B. anthracis* powoduje liżę jedynie 85% używanych do badań testowych znanych szczepów wąglika (28).

Do szybkiej diagnostyki w materiale klinicznym *B. anthracis* wykorzystuje się powszechnie przeciwciała monoklonalne swoiste dla antygeny PA (protective antigen – PA) (14, 15, 20, 31).

W powszechnym użyciu do wykrywania zarówno spor jak i form wegetatywnych *B. anthracis* jest stosowana technika PCR z użyciem primeru plazmidowego DNA (pXO<sub>1</sub>, pXO<sub>2</sub>). Wykrywalność spor tą techniką wynosi poniżej 100 komórek w 1 g badanego materiału (11, 12).

Prowadzone są wstępne badania diagnostyki laseczek wąglika w oparciu o różnice czasowe kiełkowania spor różnych gatunków rodzaju *Bacillus* na podłożu zawierającym aminokwasy: L-alaninę i tyrozynę (23).

### CZYNNIKI WIRULENTNE I STRUKTURA ANTYGENOWA

*B. anthracis* produkuje następujące czynniki wirulencji: kwas D-glutaminowy, występujący w postaci polipeptydu, obecny w otoczce bakteryjnej i trzy toksyny: czynnik PA, EF i LF (7, 11, 22).

Kwas D-glutaminowy otoczki jest haptenem i nie odgrywa większej roli w procesie immunizacji. Chroni ona komórkę przed fagocytozą. Kwas D-glutaminowy otoczki wykrywany jest w próbie immunoprecypitacyjnej Ascoliego. Ponieważ występuje on także u innych laseczek (*B. cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis*) obniża to wartość diagnostyczną próby Ascoliego i nie jest ona obecnie stosowana w większości krajów na świecie.

Czynnik PA (czynnik ochronny, protective antigen) jest lipoproteidem o masie 834 kDa. Wiąże się ze specyficznymi receptorami komórek, a następnie zostaje rozłożony przez proteazy bakteryjne do dwóch białek – czynnika LF (lethal factor, LT, czynnik letalny) o masie 655 kDa oraz czynnika EF (edema factor, czynnik obrzęku) o masie 199 kDa.

Wymienione trzy czynniki są egzotoksynami i antygenami. Koncentracja tych antygenów wzrasta w surowicy od momentu zakażenia i są one wykrywalne w diagnostyce serologicznej. One też są odpowiedzialne za efekt toksyczny, charakterystyczny dla wąglika.

Czynnik LF jest odpowiedzialny za niszczenie makrofagów, a EF powoduje obrzęk i jest wykrywalny w płynie obrzękowym. Czynnik ten jest unieczynniany przez tripsynę.

Geny odpowiedzialne za chorobotwórczość szczepu *B. anthracis* zlokalizowane są w dwóch plazmidach PXO<sub>1</sub> i PXO<sub>2</sub>. W plazmidzie PXO<sub>1</sub> są obecne trzy geny: gen pag (protective antigen), gen lef (lethal factor) i cya (edema factor). Plazmid PXO<sub>2</sub> zawiera gen kodujący kapsułę—gen cap (capsula). U zjadliwych szczepów *B. anthracis* wykrywane są oba plazmidy, natomiast u wirulentnych tylko plazmid PXO<sub>2</sub>. Podobny profil plazmidowy PXO<sub>2</sub> może posiadać *B. cereus*, często nazywany *B. pseudo-anthraxis*. Stwarza to duże trudności diagnostyczne (7, 9, 12). Ocena izolowanych ze środowiska awirulentnych szczepów *B. anthracis*, które utraciły jeden z plazmidów lub oba, jest obecnie przedmiotem dyskusji. do końca bowiem nie jest wiadomo, czy uznać je za szczepy wąglikowe, stanowiące zagrożenie, czy są one w stanie odzyskać utracone plazmidy i jakie czynniki mogą mieć na to wpływ (11, 12, 37).

Najnowsze badania wykazują, że uwarunkowanie toksyczności *B. anthracis* może mieć nie tylko charakter plazmidowy, ale i chromosomalny (14).

### DIAGNOSTYKA SEROLOGICZNA

Rutynowa diagnostyka serologiczna na świecie oparta jest na technice ELISA z wykorzystaniem antygeny PA. Koncentracja tego antygeny wzrasta w surowicy od momentu zakażenia, osiągając poziom wykrywalny metodami serologicznymi po 10 dniach choroby (12, 14).

U ludzi i zwierząt w początkowym stadium zachorowania na wąglik wykonuje się test skórny (test AST) z preparatem antygenowym z bezotoczkowego szczepu *B. anthracis* (Antraxin) (22). U chorych z ostrą postacią wągliką po 18 godzinach występuje silny miejscowy odczyn zapalny. U ludzi po przechorowaniu wągliką odczyn pojawia się po 48 godzinach. Test ten jest szczególnie polecany do rozpoznawania postaci skórnej wągliką, kiedy trudna jest izolacja bakterii. Testem tym można również sprawdzać wzrost odpowiedzi immunologicznej po szczepieniach ochronnych (29).

Ujemny wynik testu ELISA może wystąpić u ludzi w bardzo wczesnej fazie choroby lub po szybkim włączeniu kuracji antybiotykowej (14, 15).

Po szczepieniach ochronnych i przechorowaniu powstaje odporność komórkowa, utrzymująca się do około 1 roku.

### PROFILAKTYKA WĄGLIKA

Zapobieganie zachorowaniom na wąglik i profilaktykę czynną prowadzi się w krajach, gdzie występują tereny endemiczne i notowane są przypadki wągliką u ludzi i zwierząt. Szczepi się zwierzęta oraz ludzi pozostających w kontakcie z nimi.

Nadal w powszechnym użyciu jest szczepionka opracowana w 1929 r. przez Sterne (ze szczepu *B. anthracis* izolowanego od padłych krów). Jest to żywy szczep *B. anthracis* bezotoczkowy, pasażowany na świnkach morskich. szczepionka podawana jest podskórnice.

Obecnie u ludzi stosowana jest również szczepionka z wykorzystaniem antygeny PA, produkowana w oparciu o techniki inżynierii genetycznej na komórkach *B. subtilis* szczepu WB 600 (12).



## LECZENIE

Leczenie choroby wąglikowej prowadzi się jedynie u ludzi. Lekiem z wyboru pozostaje penicylina. W przypadku szczepów penicylinoopornych lub nadwrażliwości na penicylinę stosuje się leki alternatywne: makrolidy, z uwzględnieniem nowych generacji (klarytromycyna, azytromycyna, roksytromycyna), tetracykliny, chloramfenikol, nowe generacje chinolonów (1). Czas podawania antybiotyków – do 14 dni.

Po izolacji szczepu *B. anthracis* z materiału klinicznego należy określić jego wrażliwość metodą dyfuzyjną na agarze Mueller-Hintona z krwią baranią (6).

## BRŃ BIOLOGICZNA

Literatura opisująca konsekwencje użycia broni biologicznej, w tym głównie spor wąglika, obfituje w opisy dużych zagrożeń. *B. anthracis* nadal pozostaje jednym z najgroźniejszych drobnoustrojów, wykorzystywanych do produkcji tej broni. Efekty doświadczeń nad przygotowaniem i wykorzystaniem przetrwalników wąglika jako broni biologicznej przedstawili w polskim piśmiennictwie Mierzejewski i Bartoszcze (24).

Od roku 1972 istnieje zakaz produkcji i użycia broni biologicznej. Wynika on z Konwencji podpisanej przez 130 państw. Niestety, jest to dokument pozbawiony możliwości egzekwowania kar przy jego nieprzestrzeganiu. Istnieje również poważna obawa przed użyciem wąglika jako broni biologicznej przez grupy terrorystyczne.

*Jadwiga Matras, Lidia Mizak*

## PATHOGENESIS AND DIAGNOSTIC METHODS OF BACILLUS ANTHRACIS

## SUMMARY

In Poland cutaneous form of anthrax is occurring sporadically. Most of these cases were recognized in the eastern part of the country adjacent to the eastern border (Łomża region and others). The latest literature on epidemiology, diagnosis, prevention and treatment of anthrax is reviewed in order to spread modern views on anthrax and to implement changes in the diagnostic methods of anthrax in Poland.

## PIŚMIENICTWO

1. Bradaric N, Punda-Polic V. Cutaneous anthrax due to penicillin – resistant *Bacillus anthracis* transmitted by an insect bite. *Lancet* 1992, 340: 306–307.
2. Brońkowski S. Przypadki wąglika u zwierząt i ludzi. *Medycyna Wet* 1994, 69: 11–12.
3. Buczek J, Wawrzkiwicz J, Wawrzkiwicz K. *Mikrobiologia weterynaryjna*. PWN, Wydanie I, Warszawa 1981.
4. Cherkasskiy B. *Anthrax in Russia*. *Salisbury Med Bull* 1996, Special Suppl. 87: 6–7.
5. Doganay M. *Human anthrax in Turkey*. *Salisbury Med Bull* 1996, Special Suppl. 87: 8.
6. Doganay M, Aydin N. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus anthracis*. *Scand J infect Dis* 1991, 23: 333–335.

7. Ezzell JW, Abshire TG. Immunological analysis of cell associated antigens of *Bacillus anthracis*. *Infect Immun* 1988, 56: 349–356.
8. Fellows PF. A survey of worldwide strains of *Bacillus anthracis*. *Salisbury Med Bull* 1996, Special Suppl. 87: 31–33.
9. Green BD, Battisti TM, Koehler CB, i in. Demonstration of a capsule plasmid in *Bacillus anthracis*. *Infect Immun* 1985, 49: 291–297.
10. Gryglewicz T. *Bakteriologia i serologia*. Wydanie II, Wilno 1936.
11. Henderson I, Duggleby CJ, Turnbull PCB. Differentiation of *Bacillus anthracis* from other *Bacillus cereus* group bacteria with the PCR. *Int J Syst Bact* 1994, 44: 99–105.
12. Hutson RA, Duggleby CJ, Lowe JR, i in. The development and assessment of DNA and oligonucleotide probes for the specific detection of *Bacillus anthracis*. *J Appl Bact* 1993, 75: 463–472.
13. Jawetz E, Melnik J, Adelberg E. *Przegląd mikrobiologii lekarskiej*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Wydanie II, Warszawa 1991.
14. Kleine-Albers C, Bohm R. Nachweis von *Bacillus anthracis* – Schutzantigen mittels Enzym – Immunoassay (EJA) unter Verwendung von polyklonalen sowie monoklonalen Antikörpern. *J Vet Med* 1989, 36: 226–230.
15. Knisely RF. Selective medium for *Bacillus anthracis*. *J Bact* 1966, 92: 784–786.
16. Koch R. *Etiologia zachorowań na węglik*. Polski Dom Wydawniczy Ławica, Wydanie I, Poznań 1996.
17. Kwiatkowski Z. Ludwik Pasteur (1892–1895). *Życie i dzieło*. *Post Mikrobiol* 1994, 33: 3.
18. Lalitha MK, Mathai D, Thomas K i in. Anthrax – a continuing problem in southern India. *Salisbury Med Bull* 1996, Special Suppl. 87: 14–15.
19. Lindeque PM, Turnbull PCB. Ecology and epidemiology of anthrax in the Etosha National Park, Namibia. *Onderstepoort J vet Res* 1994, 61: 71–83.
20. Little SF, Leppia SH, Cora E. Production and characterization of monoclonal antibodies to the protective antigen component of *Bacillus anthracis* toxin. *Infect Immun* 1988, 56: 1807–1813.
21. Logan NA, Carman JA, Melling J, i in. Identification of *Bacillus anthracis* by API tests. *J Med Microbiol* 1985, 20: 75–86.
22. Makino SI, Uchida N, Terakado C i in. Molecular characterization and protein analysis of the cap region, which is essential for encapsulation in *Bacillus anthracis*. *J Bact* 1989, 171: 722–730.
23. Matras J, Bartoszcze M, Trudil DW. Wykrywanie węglika testem SMART. *Roczniki WIHE* 1996, 33: supl 1, 26.
24. Mierzejewski J, Bartoszcze M. Konsekwencje doświadczeń nad wykorzystaniem *Bacillus anthracis* jako broni biologicznej. *Post Mikrobiol* 1995, 34: 385–401.
25. Morris EJ. A selective medium for *Bacillus anthracis*. *J Gen Microbiol* 1955, 13: 456–460.
26. Ness GB. Ecology of anthrax. *Science* 1971, 172: 1303.
27. Państwowy Zakład Higieny. *Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce. Rok 1996.*, Warszawa 1997.
28. Reaney DC, Ackermann HW. An updefed survey of *Bacillus* phages. *Intervirol* 1981, 15: 190–197.
29. Shlyakov EN, Rubinstein E. Human live anthrax vaccine in the former USSR. *Vaccine* 1994, 12: 727–730.
30. Sisson PR, Lightfoot NF. Fingerprinting of *Bacillus anthracis* by pyrolysis mass spectrometry. *Salisbury Med Bull* 1996, Special Suppl. 87: 52–55.
31. Smardzewski RR, Stopa PJ. Evaluation of the sensitive, membrane, antigen rapid test (SMART) immunoassay device, U.S.Army – ERDEC, USA. *Roczniki WIHE* 1995, 32: supl. 1: 3.
32. Szymanowski Z, Ber A. *Zarys mikrobiologii szczegółowej*. Tom I. Spółdzielnia Wydawnicza Czytelnik, Wydanie I, 1947.
33. Titball RW, Manchee RJ. Factors affecting the germination of spores of *Bacillus anthracis*. *J Appl Bact* 1987, 62: 269–273.

34. Truszczyński M. Bakteriologia weterynaryjna. Państwowe Wydawnictwo Rolne i Leśne, Warszawa 1977.
35. Turnbull PCB. Guidance on environments known to be or suspected of being contaminated with anthrax spores. Land Contamination and Reclamation 1996, 4: 37.
36. Turnbull PCB, Bowen JE, Gillgan JS i in. Incidence of anthrax, and environmental detection of *Bacillus anthracis* in the UK. Salisbury Med Bull 1996, Special Suppl. 87: 5.
37. Turnbull PCB, Hutson RA, Ward MJ i in. *Bacillus anthracis* but not always anthrax. J Appl Bact 1992, 72: 21–28.
38. Vos V, Bryden HB. Anthrax in the Kruger National Park: temporal and spatial patterns of disease occurrence. Salisbury Med Bull 1996, Special Suppl. 87: 26–30.
39. Xudong L, Fenggin M, Aifang L. Anthrax surveillance and control in China. Salisbury Med Bull 1996, Special Suppl. 87: 16–17.

Adres autora:

Dr Jadwiga Matras

Ośrodek Badań Weterynaryjnych WIHE

ul. Lubelska 2, 24-100 Puławy