



Centrum pro výzkum  
toxických látek  
v prostředí

# Lekce 5

## ENV012 ChB HazMat

### Detekce

## Principy biologické detekce

***Ing. Pavel Častulík, CSc***

[castulik@recetox.muni.cz](mailto:castulik@recetox.muni.cz)

***Jaro 2012***



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

# Principy biologické detekce



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

# OSNOVA

- Infekční agens
- Bakteriologická detekce



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

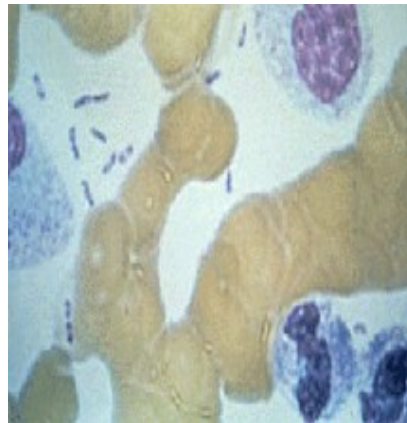
# VIRY

## EBOLA



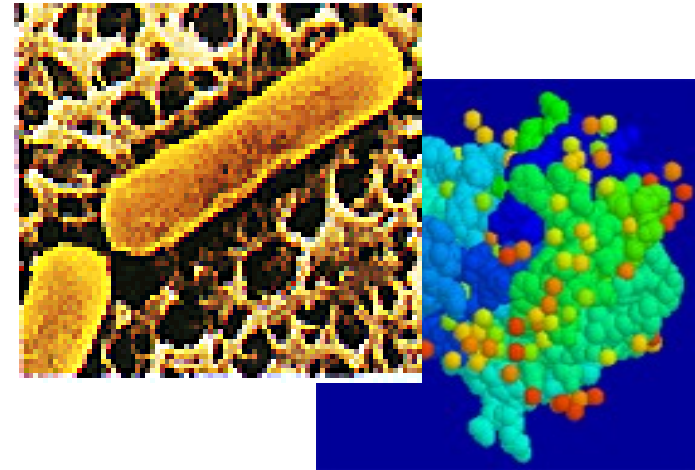
# BAKTERIE

## MOR



# TOXINY

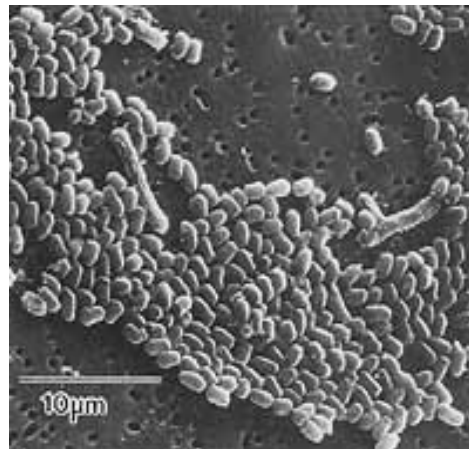
## STAFYLOCUS ENTEROTOXIN B



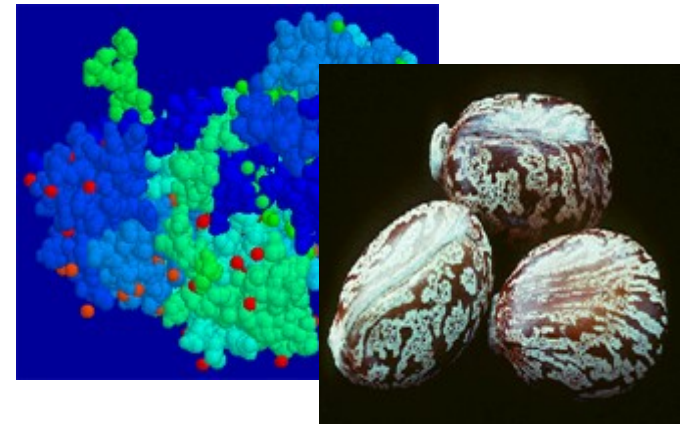
## NEŠTOVICE



## ANTRAX



## RICIN



# Neštovice-viry

- Vstup infekce:  
Inhalační
- Inkubační doba: 10-12 dní
- Nákaza přenosná
- Úmrtnost: 30%  
(inhalační nákaza)
- Symptomy:  
Horečky/zimnice  
Vrhnutí  
Bolesti hlavy/Bolesti zad  
Puchýře za 2-3 dny



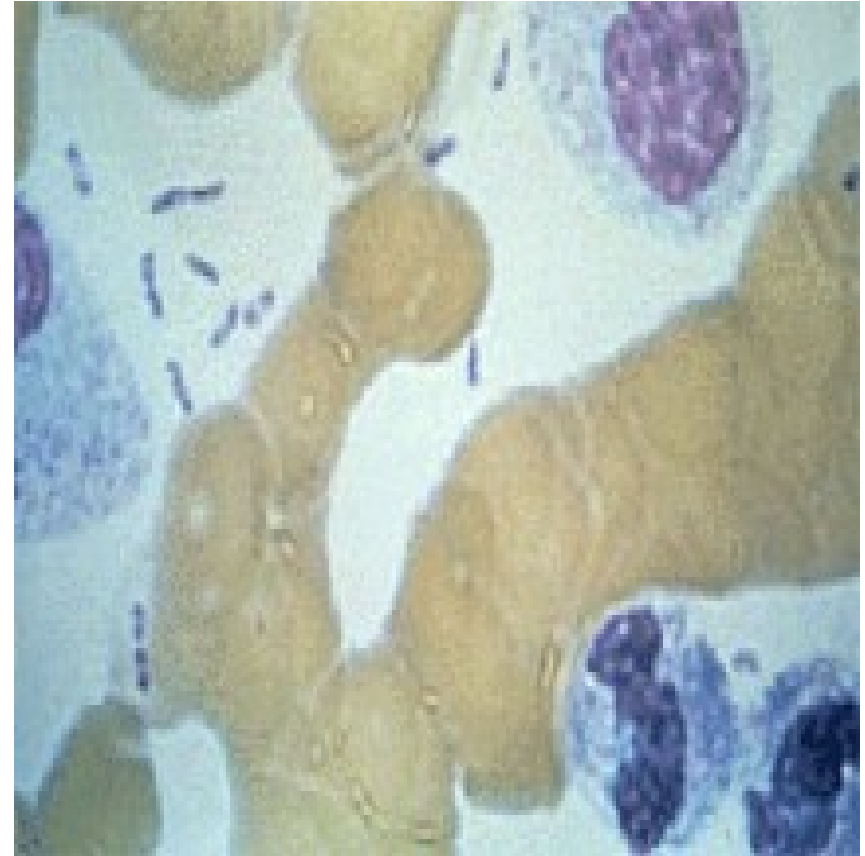
# Ebola-viry

- Vstup infekce:  
Přímý kontakt
- Inkubační doba: 3-21 dní
- Nákaza přenosná
- Úmrtnost: 90%
- Symptomy:  
Horečky/zimnice  
Vrhnutí  
Krvavé skvrny na kůži  
Krvácení



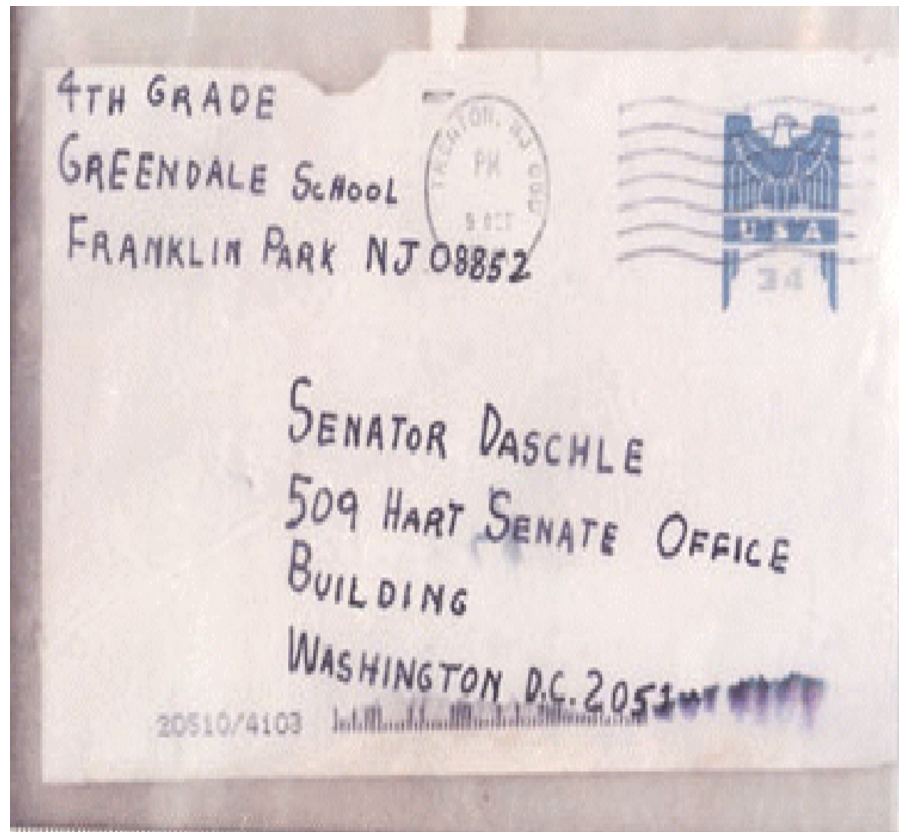
# Mor-bakterie

- Vstup infekce:  
Kousnutí blech
- Inkubační doba: 2-3 dny
- Nákaza přenosná
- Úmrtnost: 90%-100%  
(inhalační nákaza)
- Symptomy:  
Bolesti hlava  
Dýchací potíže  
Vysoké horečky/zimnice  
Chrlení krve



# Bacillus Anthracis

dobře znám jako teroristický prostředek



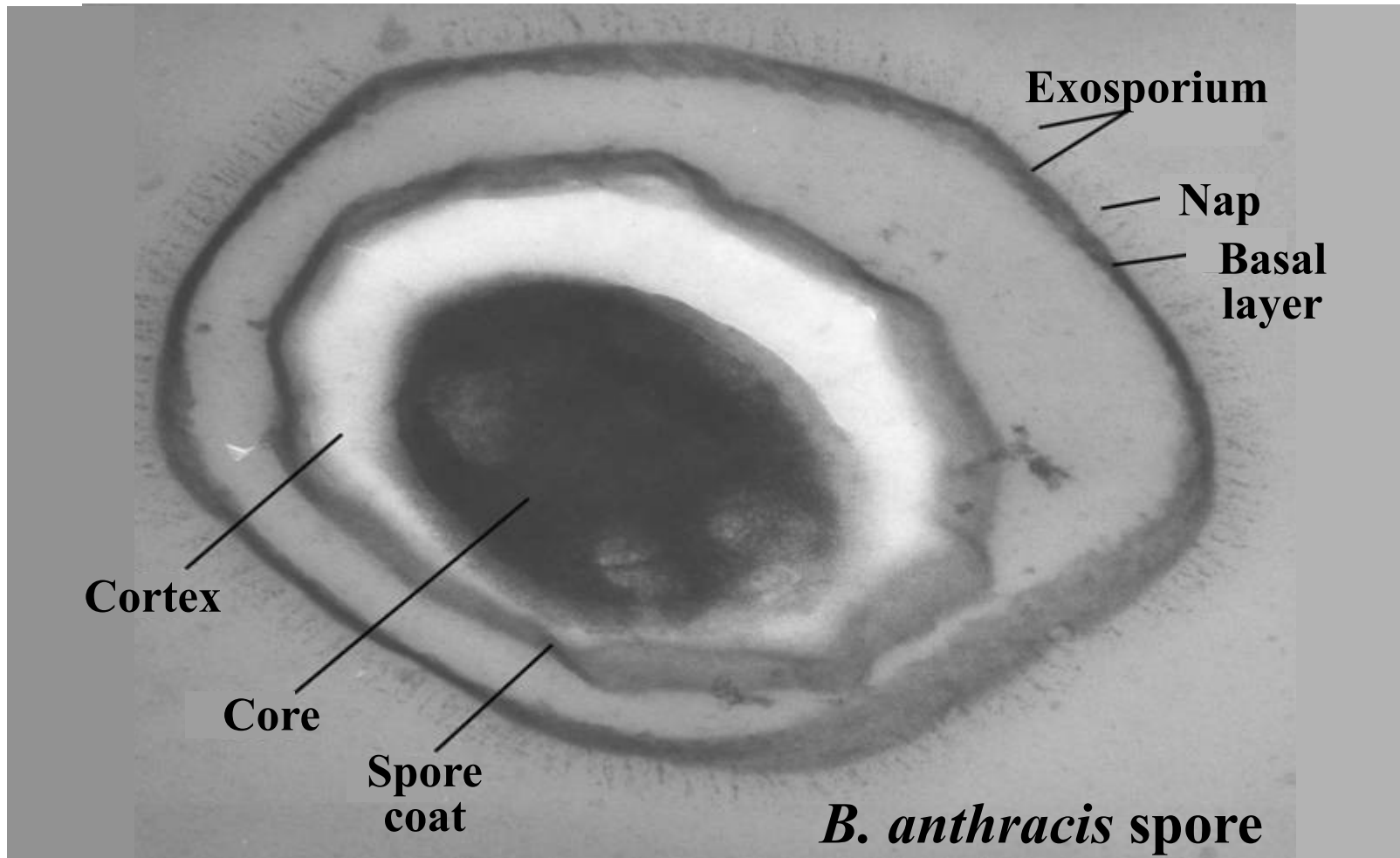


# Anthrax-spory/bakterie

- Vstup infekce:  
Dýcháním nebo  
poškozenou pokožkou
- Inkubační doba: 1-7 dní
- Nákaza nepřenositelná
- **Úmrtnost: 80%-90%**  
(inhalační nákaza)
- Symptomy:  
Rýma  
Horečka/pocit chladu  
Zduření lymfatických uzlin



# Anatomie spory antraxu



# Detekce bakteriologických látek

- Lidé jsou vnímavý a citlivý na bakteriologické expozice a v převážných případech **jedinými subjektivními biodetektory** vůbec.
- Prvotní klinické nálezy mohou být nespecifické nebo atypické ve srovnání s přírodními onemocněními. Tudíž zdravotníci-hygienici- infekční služba nemusí v počátcích být schopni odlišit přírodní onemocnění od bakteriologického útoku.
- Objektivní instrumentální detekce bakteriologických je ztížena stále omezenými technologickými možnostmi ve vztahu k potřebné **rychlosti detekce a specifičnosti**.

# Detekce bakteriologických látek

## Indikátory

- Existují odlišnosti mezi přírodním průběhem epidemií a bakteriologickým útokem:
- Epidemická křivka kulminuje během hodin (použití toxinů) nebo několika dnů (mikroorganismů) a počet obětí narůstá trvaleji
- Může být souběžný výskyt onemocnění v různých místech
- Geograficky atypické onemocnění
- Vysoký výskyt zasažení respiračního systému (expozice aerosoly-antrax)
- Oběti se vyskytují po směru převažujícího větru
- Menší poměr zasažených osob pracujících ve vnitřních prostorech vybavených ventilací oproti osobám z vnějšího prostředí (nebo zcela naopak, pokud bioútok byl směřován do budov).
- Zvýšený počet nemocných zvířat, často různých druhů
- Velké množství smrtelných případů obětí s omezenými příznaky souvisejících s velkou expozicí v blízkosti útoku
- Svědci útoku a nalezení důkazů o použití prostředků a zařízení k provedení záměrného útoku

# Diagnóza-odběr vzorků

- Diagnóza skutečné bakteriologické expozice oběti je časově náročná a vyžadující převážně laboratorní vybavení
- Pro stanovení diagnózy je velmi důležité provedení odběrů environmentálních a biologických vzorků a jejich rychlé vyhodnocení jak na místě tak zejména v laboratorních podmínkách



# Odběry biologických vzorků





# Balení a transport vzorků

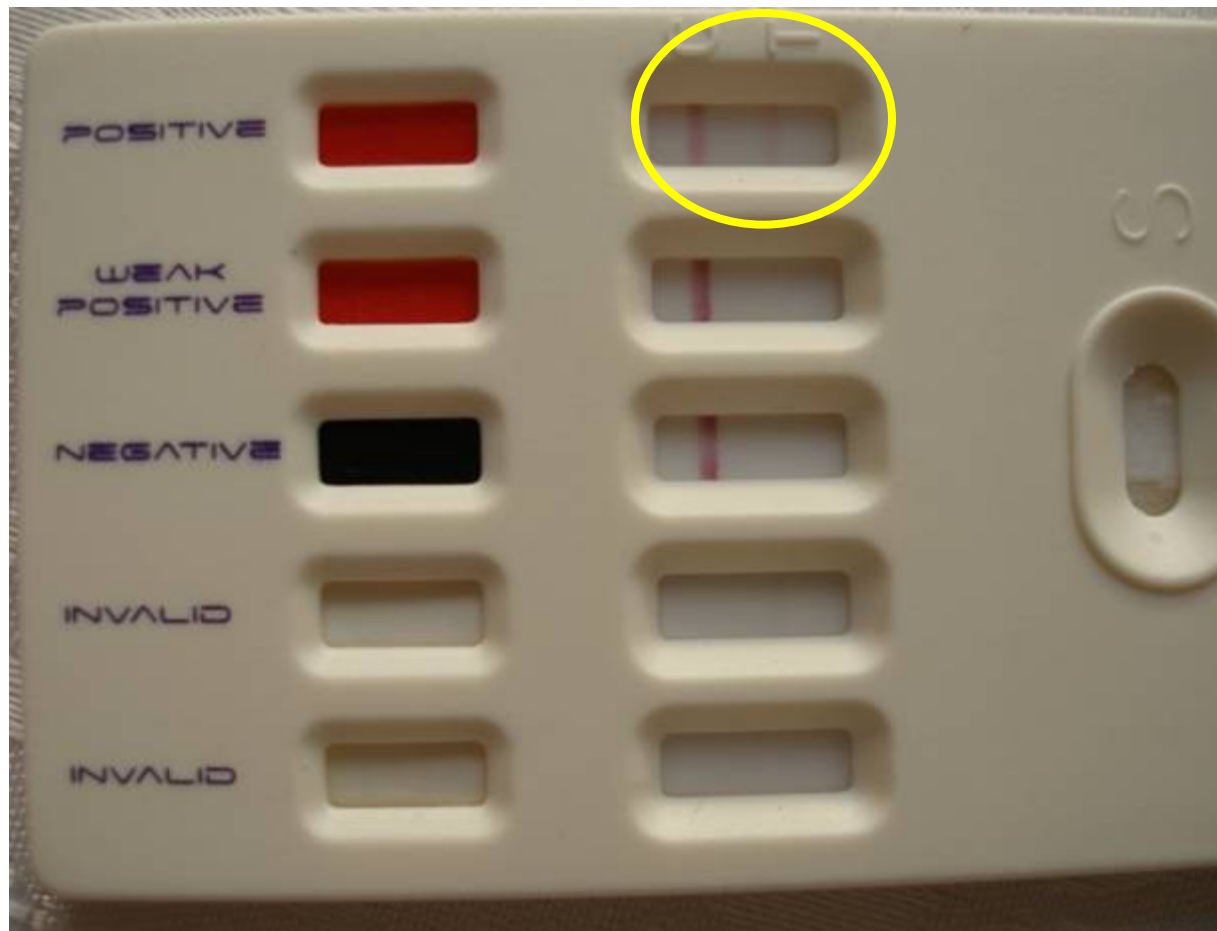


# Bio-Identifikace-metody

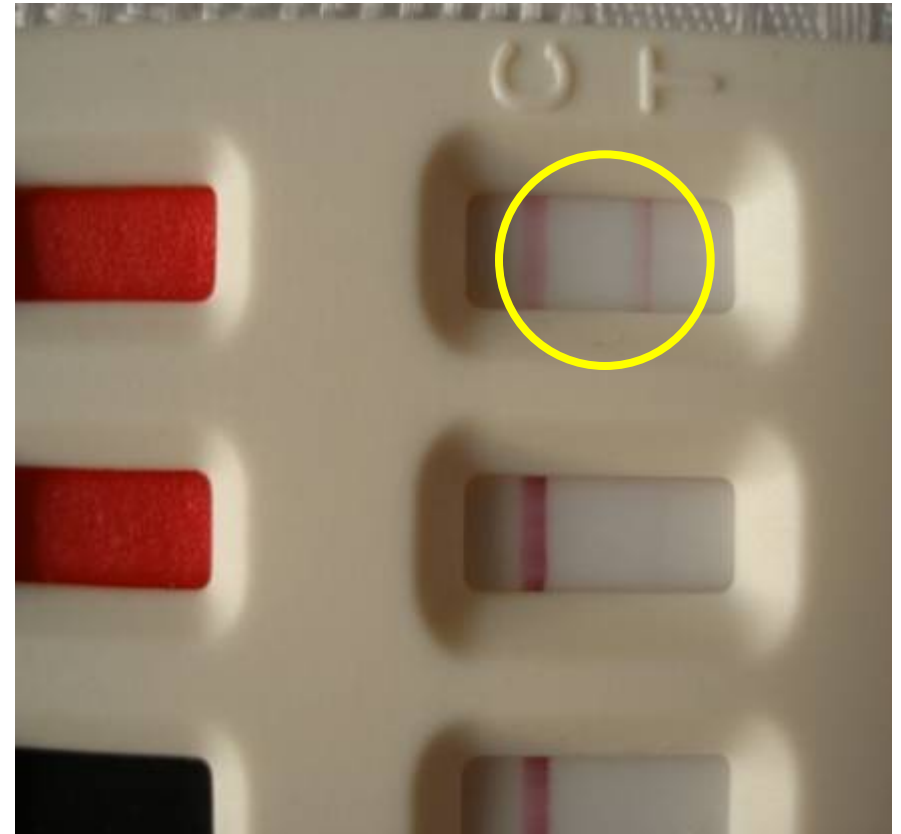
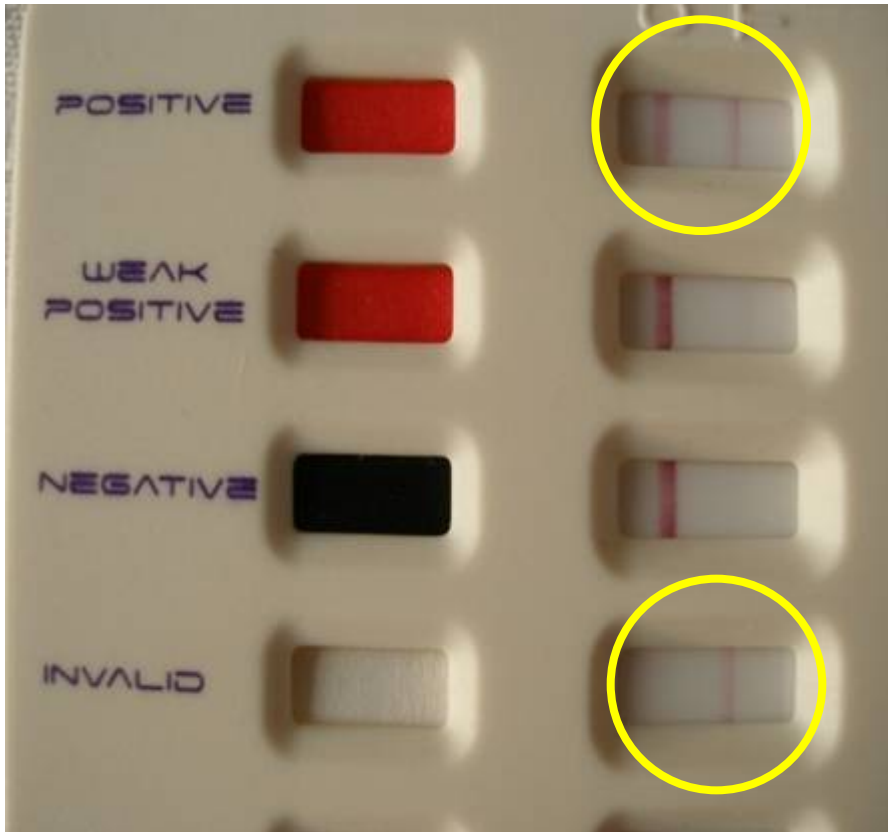
- Izolace infekčních kultur (1 až 2 dny)
- Detekce toxinů GC-MS nebo zvířecí inokulací
- Antibody detekce (specifický immunoglobulin M se může objevit během 3 dnů)
- Detekce antigenů enzymatickou nebo jinou citlivou zkouškou
- Detekce genomu s použitím DNA vzorků
- Detekce metabolických produktů infekční nebo toxické látky v klinických vzorcích



# Bio-detektor na tenké vrstvě



# Bio-detektor na tenké vrstvě

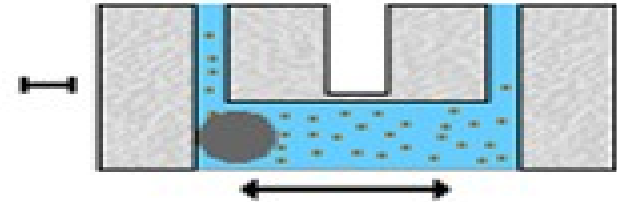


# Automatický bio-detektor

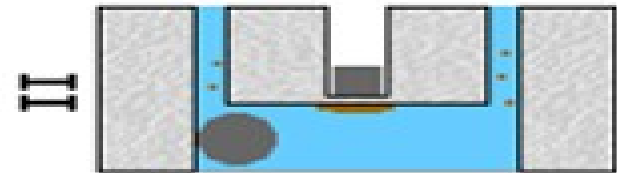


# Detekce bio-látek na magnetických nosičích

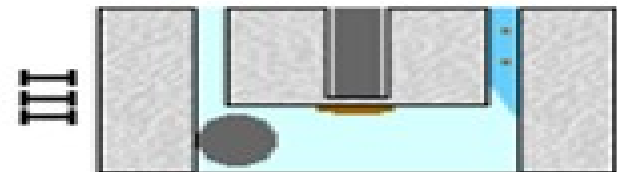
I. Navázání spor na magnetické mikročástice s markerem



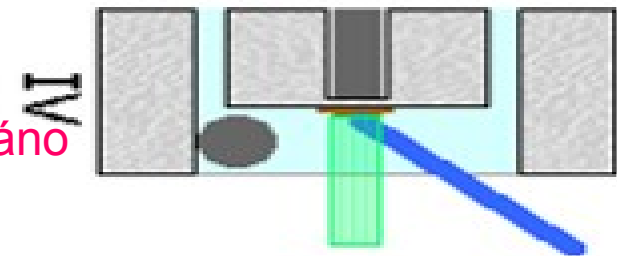
II. Spory na magnetickém nosiči jsou magneticky separovány/shromážděny



III. Nenavázané markery jsou odstraněny výplachem

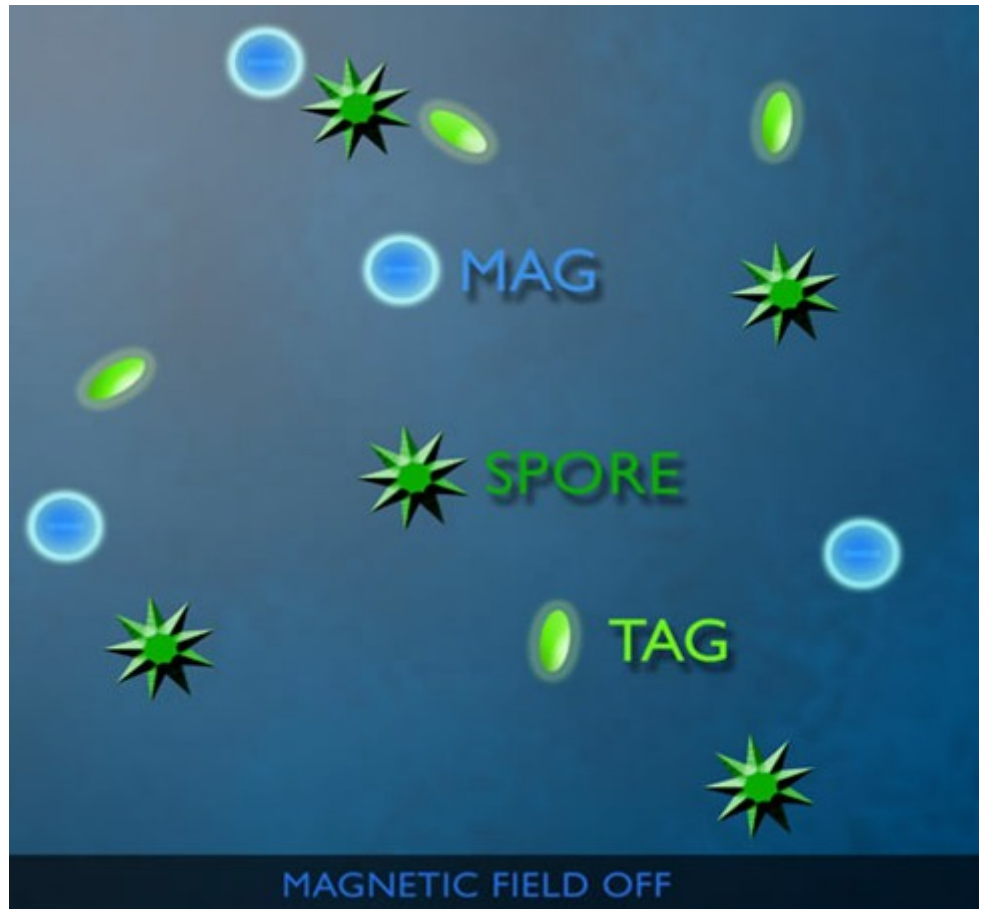


IV. Shromážděné označené spory na magnetických mikročásticích jsou vybudeny světlem a jejich emitované záření je detekováno



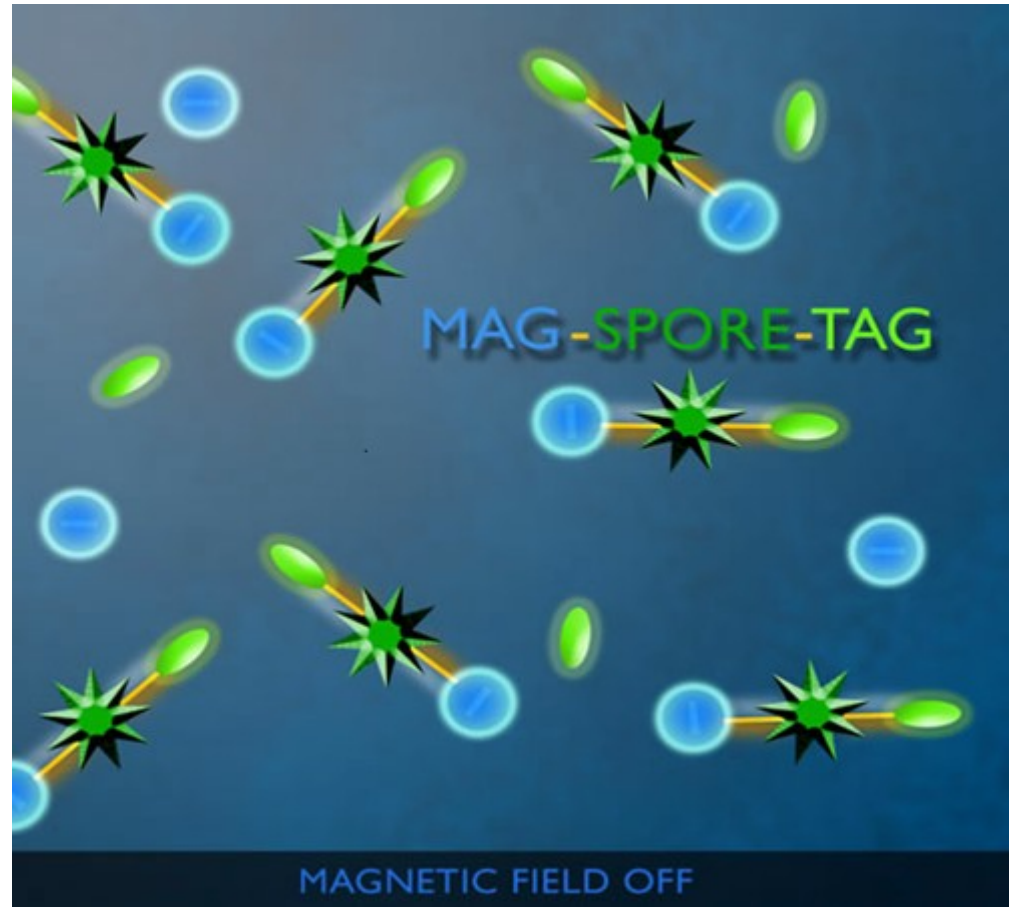
# QTL Biosensor Assay Technology

I. Spory jsou smíchány s reagenty obsahující magnetické kulové mikročástice a fluorescenční markery



# QTL Biosensor Assay Technology

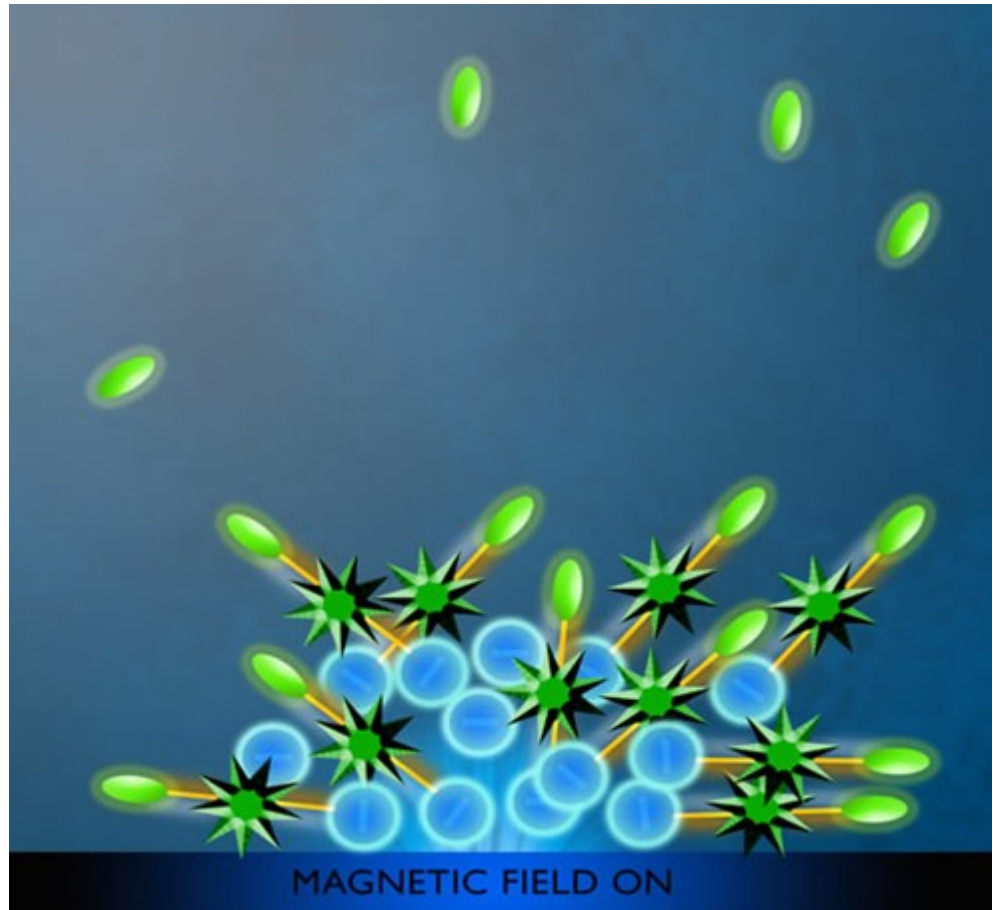
II. Indikační materiály se naváží na spory v průběhu míchání a inkubační doby





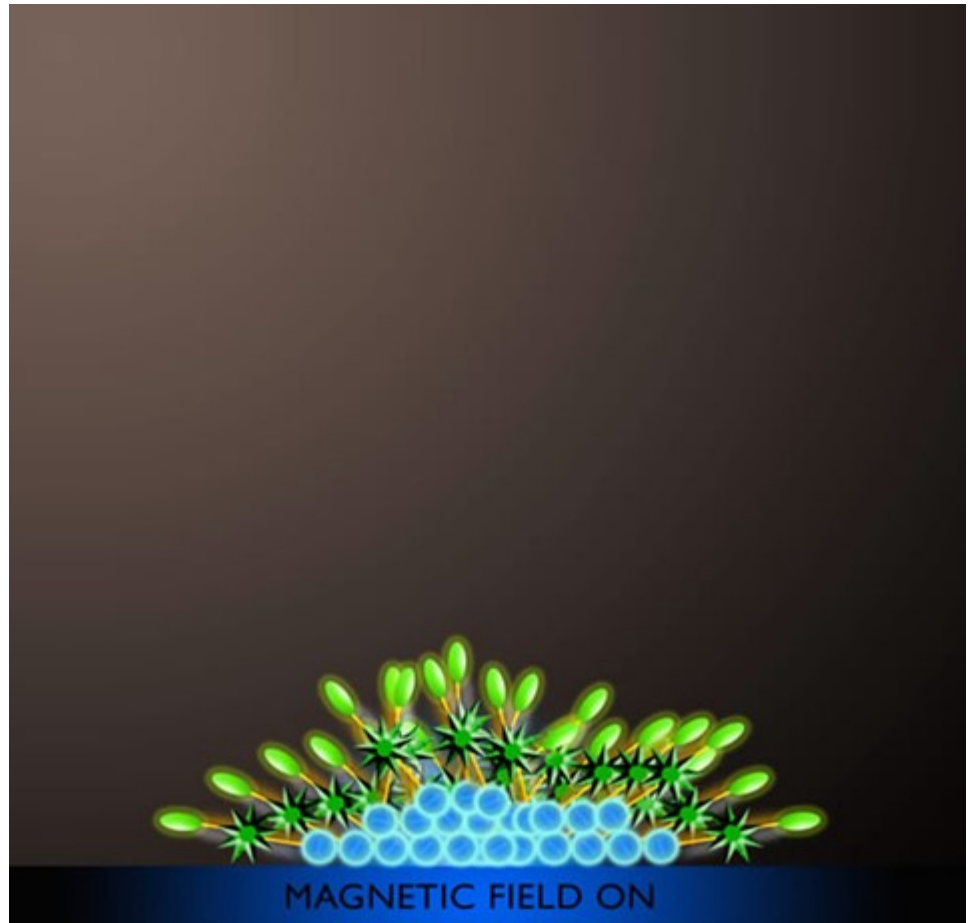
# QTL Biosensor Assay Technology

III. Roztok je  
zmagnetizován a  
všechen navázaný i  
nenavázaný  
magnetický materiál  
je zachycen na  
magnetickém  
povrchu



# QTL Biosensor Assay Technology

IV. Nenavázané markery zůstávají v roztoku a jsou odstraněny vypláchnutím

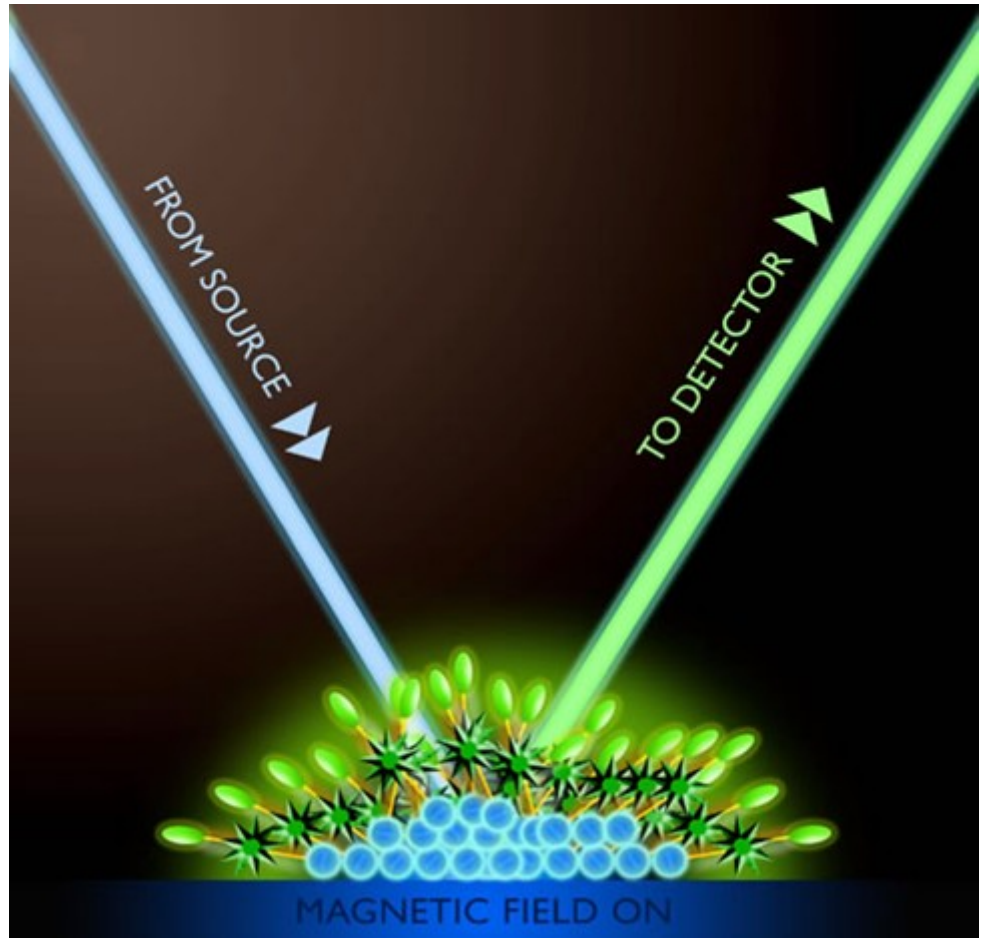




# QTL Biosensor Assay Technology

V. Kuličky jsou vybudeny světelným zdrojem

- Navázané markery vysílají světelné záření
- Emitované světlo je zesíleno a dále zpracováno

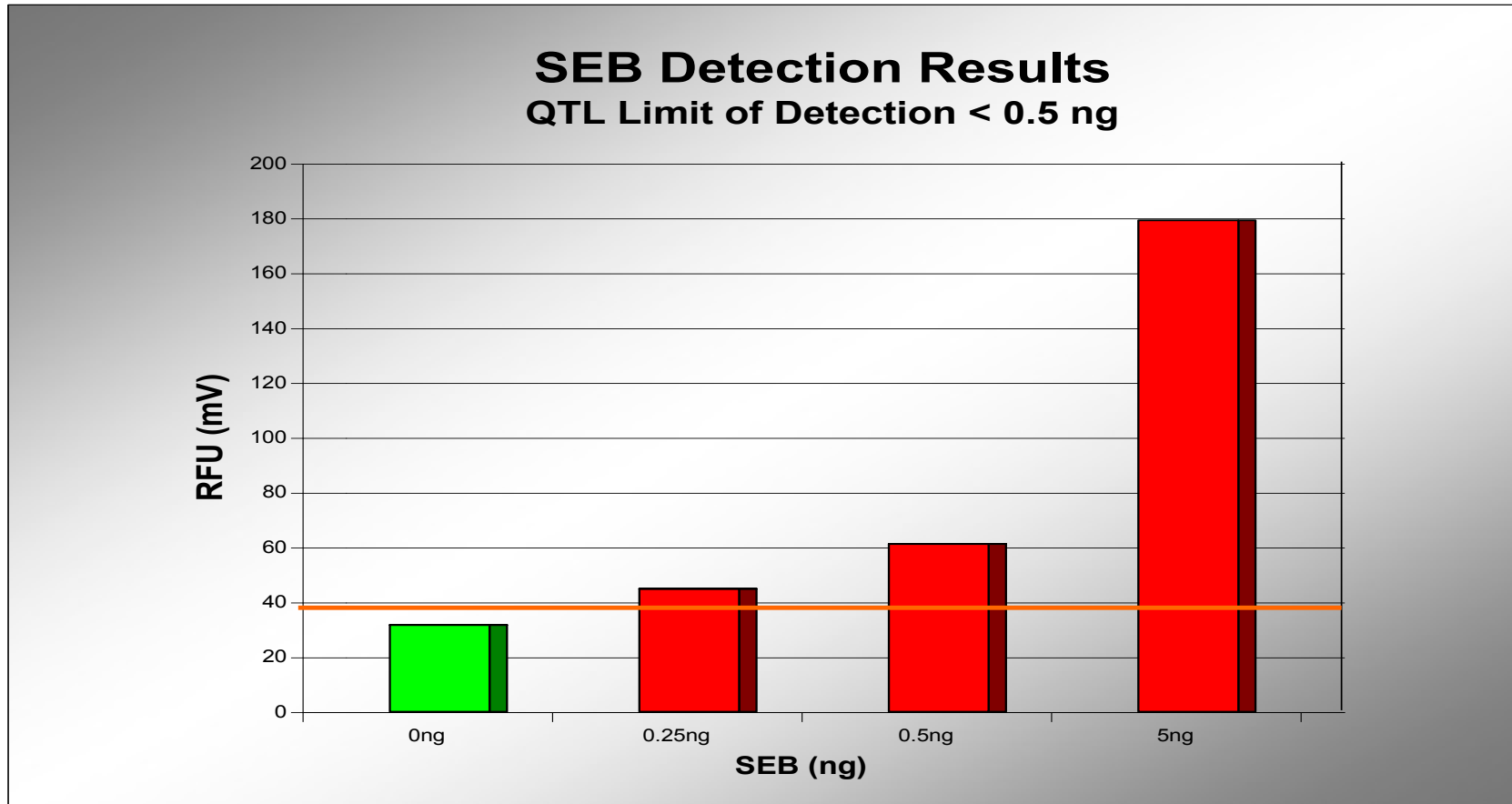


# Konečný výsledek detekce

- **Zachycená a označená spora**

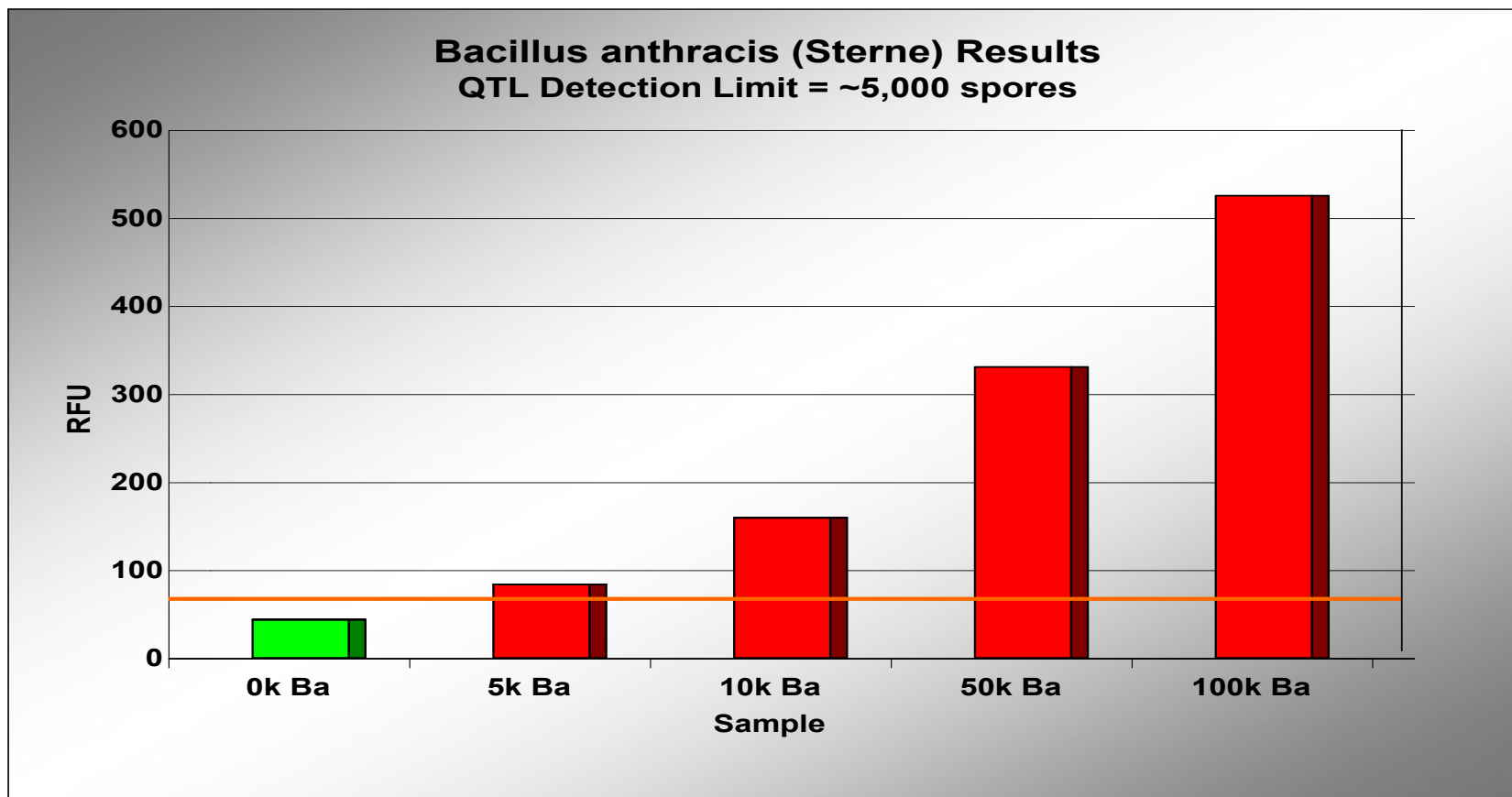


# Detekce toxinu SEB



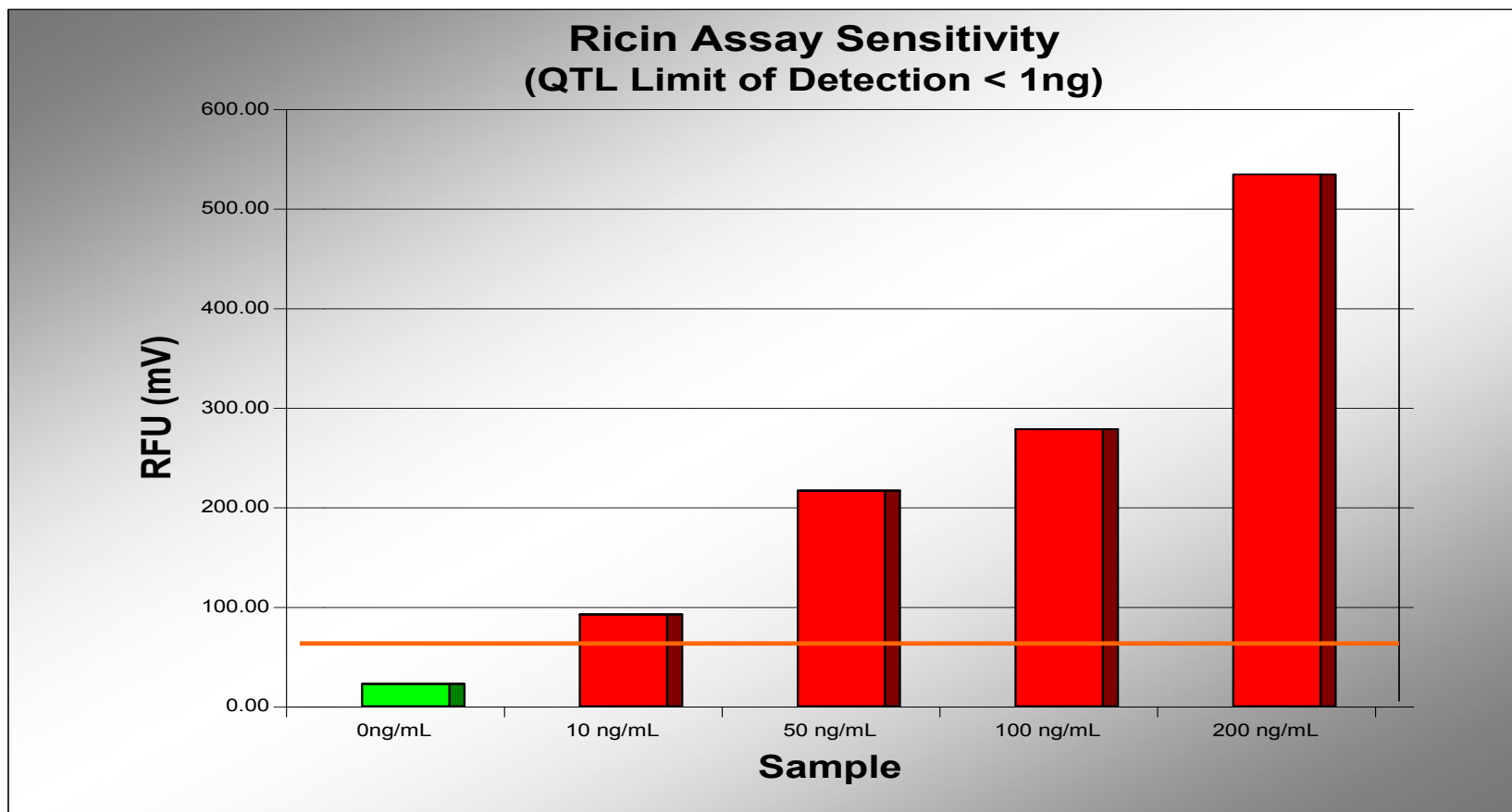
**<0.5 ng detekováno během 5 minut**

# Detekce Bacillus Anthracis LOD



**< 10,000 spor detekováno během 5 minut**

# Detekce toxinu ricinu



**< 1 ng detekováno během 5 minut**



# *QTL BIOSENSOR*

# DOTAZY



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

# ZÁVĚRY



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



# ZÁVĚRY