Epidemiologie 4-010 6.12.2010 11:02 Str. 205
proLékaře.cz | 29.12.2026

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 59, 2010, č. 4, s. 205–208

Sporicidní činidla schopná s vysokou účinností inaktivovat spóry *Bacillus anthracis*

Severa J.[1], Klaban Vl.[1], Černý T.[2], Bernadiová I.[2], Cabal J.[3]

[1]Decomkov Praha, s. r. o.
[2]Státní veterinární ústav Praha
[3]Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, katedra toxikologie Hradec Králové

SOUHRN

Experimentálně ředicí neutralizační metodou – kvantitativním suspenzním testem bez přítomnosti zátěže – byla ověřena vysoká schopnost biocidních činidel Hvězda a PTSPCH-J inaktivovat spóry *Bacillus anthracis*.
Klíčová slova: **antrax – spory – *Bacillus anthracis* – inaktivace.**

SUMMARY

Severa J., Klaban Vl., Černý T., Bernadiová I., Cabal J.: Sporicidal Agents Highly Effective in Inactivating *Bacillus anthracis* Spores

By the dilution-neutralization test – a quantitative suspension test without organic load – the biocidal products Hvězda and PTSPCH-J have been shown highly effective in inactivating *Bacillus anthracis* spores.
Key words: **anthrax – spores – *Bacillus anthracis* – inactivation.**

Úvod

Bacillus anthracis (B. anthracis) je řazen mezi vysoce riziková biologická agens [7, 11] využitelná zejména k teroristickým útokům. Zvláštní pozornost tomuto agens začala být věnována po sérii tzv. antraxových dopisů po 11. září 2001 v USA, které mj. vedly u 11 kontaminovaných osob po vdechnutí spor k inhalačnímu antraxu, z nichž pět jich zemřelo [11].

B. anthracis je nepohyblivá grampozitivní sporulující tyčinka délky mezi 4–8 μm, průměru 1–1,5 μm. Spóry *B. anthracis* jsou vysoce odolné nejen vůči vlivům zevního prostředí, ale také různým fyzikálním faktorům a biocidním činidlům. Právě tyto vlastnosti spór zvýrazňují nebezpečnost a riziko onemocnění antraxem a představují infekční formu mikroorganismu *B. anthracis*.

Příčinou onemocnění je kompletní antraxový toxin tvořený trojicí proteinů: *protektivní antigen, edematózní faktor a letální faktor*, přičemž jednotlivé faktory samy o sobě nejsou toxické. Spóry antraxu jsou nejprve fagocytovány mikrofágy, ve kterých pak dochází k jejich germinaci a množení. Poté jsou syntetizovány jednotlivé složky antraxového toxinu. Spóry jsou oválného tvaru velikosti přibližně 1–3 μm.

Jsou známy tři formy onemocnění:

a) plicní – jejím prvotním projevem jsou zvýšená teplota, slabost, bolest v oblasti hrudníku, dušnost;
b) kožní – začíná svěděním, poté se vytvoří nebolestivý pupínek, který se následně mění v malý puchýř naplněný mikroorganismy a leukocyty, a po prasknutí puchýře se v místě infekce vytvoří nejprve hnisavý, později nekrotický zčernalý vřed;
c) střevní – projevuje se vysokou horečkou a krvavými průjmy.

Existuje dostatek literárních pramenů popisujících snahu vědeckých pracovníků nalézt způsob, jak rychle a účinně inaktivovat spóry *B. anthracis*, avšak ne všechny způsoby jsou v praxi využitelné, často vyžadují speciální technické vybavení, ověřované nutné doby expozice jsou dlouhé, stupeň inaktivace spor je nízký apod.

Rogers, J. V. et al. ověřovali využití plynného formaldehydu o koncentraci 1000 ppm při době působení 10 hodin k inaktivaci spór *B. anthracis*, jimiž bylo kontaminováno sedm druhů vnitřních

Epidemiologie 4-010 6.12.2010 11:02 Str. 206
proLékaře.cz | 29.12.2026

povrchů [8]. Za popsaných podmínek experimentu bylo zjištěno výrazné snížení schopnosti růstu *B. anthracis* na všech kontaminovaných povrchách.

Byl také ověřován účinek vysokého tlaku vzduchu a vyšších teplot na inaktivaci spór *B. anthracis* [2] se závěrem, že k inaktivaci spór nedochází za atmosférického tlaku při teplotách 20, respektive 45 °C při době expozice 360 min. Jsou popsány rozdílné průběhy závislosti stupně inaktivace spór pro teploty 45 či 75 °C a tlaky 280, 400 a 500 MPa.

V jiné práci [3] je popsáno využití UV záření vlnové délky 254 nm a dále záření gama k inaktivaci spór *B. anthracis*. Pro srovnání účinků byly použity spóry *Bacillus cereus (B. cereus)* pro jejich podobnost se spórami *B. anthracis*. Ověřili, že spóry *B. anthracis* kmen Sterne jsou více rezistentní vůči UV_{254} záření než spóry *B. cereus* a dále, že suché spóry na tuhém povrchu jsou rezistentnější, než jsou-li ve formě vodné suspenze. K podobným závěrům dospěli i při sledování účinků záření gama.

Armon R. et al. se zabývali využitelností fotokatalýzy za přítomnosti nanočástic TiO_2 k dezinfekci vody kontaminované spórami *B. anthracis* [1]. Princip účinků objasňují zvýšenou tvorbou hydroxylových radikálů ($HO^{\cdot}$) aktivních při oxidačním procesu, zejména ve vodném prostředí. Radikály působí jako silný biocid.

Za zajímavou lze považovat studii kinetiky inaktivace avirulentních spór *B. anthracis* v mléce působením tepla a peroxidu vodíku [12]. Výsledky studie vedou k závěru, že kombinace teplot 90–95 °C a peroxidu vodíku o koncentraci 0,05–0,5 % mohou být případně využity k odstranění této kontaminanty z mléka do té míry, že mléko bude bezpečně použitelné.

Rose L. J. et al. ověřovali účinek volného (aktivního) chlóru na inaktivaci spór sedmi bakteriálních agens využitelných k teroristickým útokům vedoucím ke kontaminaci zdrojů pitné vody [9]. Dospěli k závěru, že existují rozdíly nejen v nutných minimálních koncentracích volného chlóru a předem ověřených dobách expozice pro různá agens, ale také i pro různé kmeny téže kontaminanty, jak to bylo zjištěno pro spóry *B. anthracis* kmene Amiens, či kmene 34F2. Přitom musí být brán zřetel i na podmínky, za nichž je ověřování uskutečněno, tj. zejména na pH a na teplotu prostředí.

V jiné studii jsou popsány spóricidní účinky biocidů bez přítomnosti reziduí a za přítomnosti reziduí (plnotučného mléka, vaječného žloutku a moučné pasty) na inaktivaci avirulentních spór *B. anthracis* kmenů 7702, ANR-1 a 9139 [5]. Byly použity: peroxooctová kyselina, chlornan sodný a peroxid vodíku různých koncentrací při teplotách 10, 20 nebo 30 °C a době působení 10 minut. Největší inhibiční vliv zátěže se projevil u chlornanu sodného. Jestliže chlornan sodný (5 % aktivního chlóru) redukuje počet spór schopných germinace při teplotě 10 °C o 4 log řády, pak za přítomnosti zátěže je dosažený redukční faktor poloviční. Přítomnost reziduí nemá vliv na spóricidní účinnost kyseliny peroxooctové, ani peroxidu vodíku.

Materiál a metody

Byla ověřována sporicidní účinnost dvou kapalných dvousložkových pěnotvorných činidel zásaditého charakteru (pH cca 12) se širokospektrými dezinfekčními a významnými detoxikačními účinky: HVĚZDA a PTSPCH-J. HVĚZDA byla vyvinuta ve spolupráci s UO FVZ Hradec Králové, činidlo PTSPCH-J v Decomkov Praha, s. r. o., Laboratoře Hradec Králové. HVĚZDA je již vyráběna, zařazena mezi dezinfekční činidla používaná v AČR a náleží k přípravkům schválených MZd k používání. Pro druhé činidlo, PTSPCH-J, je v současné době řešen vhodný technický prostředek pro jeho použití, zejména jako prostředku pro prvotní odmoření jednotlivce, a to jak pro AČR, tak pro IZS.

Činidlo HVĚZDA sestává ze 4 objemových dílů složky AB, což je alkalizovaná směs tenzidů a z 1 objemového dílu složky CC (15% roztok peroxidu vodíku).

Složka *a* činidla PTSPCH-J obsahuje N-metyl-2-pyrrolidon, tri-n-butylfosfát a tenzid., složku *b* tvoří 0,64 mol . dm^{-3} chlornan sodný.

Sporicidní účinnost na spóry *B. anthracis* byla ověřována ve Státním veterinárním ústavu Praha-Lysolaje kvantitativním suspenzním testem, diluční neutralizační metodou podle ČSN-EN 13 704 [4], bez zátěže. Neutralizační činidlo: Dey-Engley Neutralizing Broth (Hi Media M 1062-500G) Testovací teplota: 21 °C. Použité mikroorganismy: *Bacillus anthracis* Sterne (A 15, CN England 1937). Sporulace kmene: 96 %.

K ověření, že i nově vyvíjený biocidní přípravek PTSPCH-J má vysokou sporicidní účinnost i za přítomnosti bílkovinné zátěže, byl proveden experiment s použitím spór *Bacillus subtilis* CCM 1999 (sporulace kmene 99,2 %)., za jinak shodných podmínek uvedených v předchozím odstavci. Testovací teplota: 21 °C. Zátěž nízká: hovězí albumin 3 g . dm^{-3}, zátěž vysoká: hovězí albumin 10 g . dm^{-3} + kvasniční extrakt 10 g . dm^{-3}.

Uvedená činidla nelze testovat koncentrovaná (100%), protože při použití dané metody dochází ke zředění přidáním suspenze spór a činidla lze testovat pouze při koncentraci 80% a menší.

Výsledky

V tabulce 1 jsou prezentovány výsledky experimentálního ověření sporicidní účinnosti činidel HVĚZDA a PTSPCH-J na spóry *B. anthracis*. V podstatě platí, že obě činidla mají přibližně stejnou účinnost, i když lze předpokládat, že mechanismus inaktivace spór jednotlivých činidel se pravděpodobně liší.

Epidemiologie 4-010 6.12.2010 11:02 Str. 207
proLékaře.cz | 29.12.2026

Tab. 1. Sporicidní účinnost koncentrovaných (80%) činidel HVĚZDA a PTSPCH-J*

Table 1. Sporicidal activity of concentrated (80 %) agents HVĚZDA and PTSPCH-J*

Testovaný prostředek	HVĚZDA	PTSPCH-J	Neutralizační činidlo
Podmínky	Čisté	Čisté	
No (cfu . ml^{-1})	3,9 x 10^8	3,9 x 10^8	3,9 x 10^8
log No	8,59	8,59	
Nd (cfu . ml^{-1})	< 10	< 10	
log Nd	< 1	< 1	
log redukce	> 8	> 8	

*Ověřovaná na spóry *B. anthracis* v čistém prostředí, doba kontaktu 15 min, teplota 21 °C.
Legenda:
N_0 – počet cfu . ml^{-1} ve zkušební suspenzi před přidáním biocidního činidla
N_d – počet cfu . ml^{-1} po době kontaktu suspenze s biocidním činidlem
cfu – počet jednotek tvořících kolonie

*Tested on *B. anthracis* spores under no protein load, exposure time 15 min, temperature 21 °C
Legend: N0 – the number of cfu . ml^{-1} in the test suspension before the exposure to the biocidal agent
Nd – the post-exposure number of cfu . ml^{-1}
cfu – colony forming unit

Výsledky testu souvisejícího s ověřením vlivu reziduí různých koncentrací na účinnost neředěného i zředěného činidla PTSPCH-J na inaktivaci spor *B. subtilis* jsou uvedeny v tabulce 2.

Tab. 2. Sporicidní účinnost biocidního činidla PTSPCH-J různých koncentrací*

Table 2. Sporicidal activity of the biocide PTSPCH-J at different concentrations*

Testovaný prostředek, koncentrace	PTSPCH-J 10%	PTSPCH-J 80%	PTSPCH-J 80%
Podmínky	zátěž nízká	zátěž nízká	zátěž vysoká
No (cfu . ml^{-1})	7,9 . 10^8	7,9 . 10^8	7,9 . 10^8
log No	8,9	8,9	8,9
Nd (cfu . ml^{-1})	< 1	< 1	< 1
log Nd	0	0	0
log redukce	> 8	> 8	> 8

*Testovaná na spóry *Bacillus subtilis* v prostředí s nízkou a vysokou zátěží, doba kontaktu 30 min, teplota 21 °C.
Legenda:
N_0 – počet cfu . ml^{-1} ve zkušební suspenzi před přidáním biocidního činidla
N_d – počet cfu . ml^{-1} po době kontaktu suspenze s biocidním činidlem
cfu – počet jednotek tvořících kolonie
zátěž nízká: hovězí albumin 3 g . dm^{-3}
zátěž vysoká: hovězí albumin 10 g . dm^{-3} + kvasniční extrakt 10 g . dm^{-3}

*Tested on *B. anthracis* spores under a low and a high protein load, exposure time 30 min, temperature 21 °C.
Legend: N0 – the number of cfu . ml-^{1} in the test suspension before the exposure to the biocidal agent
Nd – the post-exposure number of cfu . ml^{-1}
cfu – colony forming unit
low protein load: bovine albumin at 3 g . dm^{-3}
high protein load: bovine albumin at 10 g . dm^{-3} + yeast extract at 10 g . dm^{-3}

Diskuse

U obou činidel byl dosažen redukční faktor počtu spór schopných germinace větší než 8 log řádů, což svědčí o mimořádně vysoké inaktivační účinnosti obou biocidních přípravků, a to bez ohledu na typ biocidu obsaženého v dezinfekčním přípravku. Činidlo PTSPCH-J s chlornanem sodným (3,9 % aktivního chlóru) obsahuje také dvě organické látky, které významně narušují bariéry tvořící obal spóry a tím usnadňují průnik biocidu do centrální části spóry, a umožňují tak biocidu inaktivat spóru.

Ani přítomnost reziduí, a to i ve vysoké koncentraci, nesnižuje sporicidní účinnost činidla PTSPCH-J. Je to dáno především dostatečně vysokou koncentrací biocidu, pH prostředí a přítomností tří organických sloučenin způsobujících dispergaci, následné rozpuštění v zátěži přítomných bílkovin a tuků a jejich degradaci biocidem.

Jestliže by byla testovaná činidla použita ve formě pěny generované z koncentrovaných (100%) činidel, lze oprávněně předpokládat jejich výrazně vyšší sporicidní účinek [10].

Závěr

Byla vyvinuta dvě biocidní činidla s vysokým inaktivačním účinkem na spóry *B. anthracis*, která by mohla být prakticky využita k likvidaci následků po teroristickém útoku spojeném s použitím spór *B. anthracis* k dezinfekci tuhých povrchů včetně kůže, a to jak ve formě nástřiku činidel, tak ve formě pěn.

Použité zkratky

AČR	– Armáda české republiky
B. anthracis	– *Bacillus anthracis*
B. cereus	– *Bacillus cereus*
IZS	– Integrovaný záchranný systém
MZd	– Ministerstvo zdravotnictví
UO FVZ	– Univerzita obrany Fakulta vojenského zdravotnictví

Literatura

1. **Armon, R., Weltch-Cohen, G., Bettane, P.** Disinfection of Bacillus spp. spores in drinking water by TiO_2 photocatalysis as a model for *Bacillus anthracis*. *Supply*, 2004, 4, 2, p. 7–14.
2. **Cléry-Barraud, C., Gaubert, A., Masson, P., Vidal, D.**

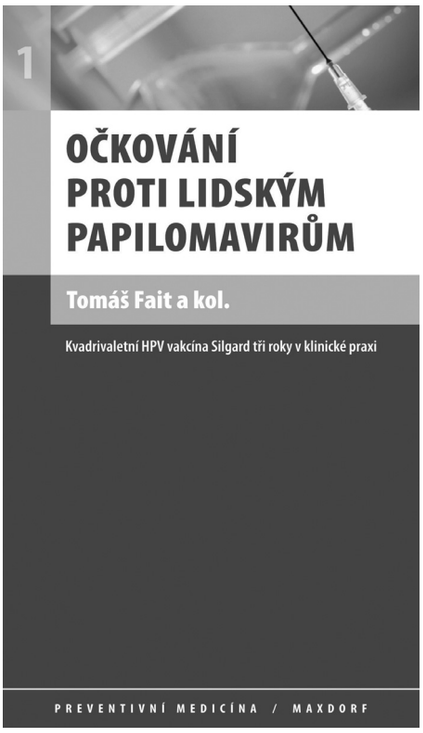
Epidemiologie 4-010 6.12.2010 11:02 Str. 208
proLékaře.cz | 29.12.2026

Combined Effects of High Hydrostatic Pressure and Temperature for Inactivation of *Bacillus anthracis* Spores. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, 70, 1, p. 635–637.
3. **Blatchley, E. R., Meeusen, A., Aronson, A. I., Brewster, L.** Inactivation of Bacillus Spores by Ultraviolet or Gamma Radiation. *Environ. Eng.*, 2005, 131, 9, p. 1245–1252.
4. Česká technická norma ČSN EN 13704 Chemické dezinfekční přípravky – Kvantitativní zkouška s použitím suspenze ke stanovení sporicidního účinku chemických dezinfekčních přípravků používaných pro potraviny, průmysl, domácnosti a veřejné prostory – Zkušební metoda a požadavky (fáze 2/stupeň 1). Český normalizační institut, 2002, 34 s.
5. **Hilgren, J., Swanson, K. M. J., Diez-Gonzalez, F., Cords, B.** Inactivation of *Bacillus anthracis* Spores by Liquid Biocides in the Presence of Food Residue. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, 73, 20, p. 6370–6377.
6. **Inglesby, T. V., O Toole, T., Henderson, D. A.,Bartlet, J. G. et al.** Antrax as a Biological Weapons. Updated Recomendations for Management. *JAMA*, 2002, 287, 17, p. 2236–2252.
7. **Pohanka, M., Skládal, P.** *Bacillus anthracis, Francisella tularensis* and *Yersinia pestis* the Most Important Bacterial Warfare Agents – review. *Folia Microbiol.*, 2009, 54, 4, p. 263–272.
8. **Rogers, J. V., Choi, Y. W., Richter, W. R., Rudnicki, D. C. et al.** Formaldehyde gas nactivation of *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, and *Geobacillus stearothermophilus* spores on indoor surface materials. *J. Appl. Microbiol.*, 2008, 74, 4, p. 1104–1112.
9. **Rose, L. J., Rice, E. W., Jensen, B., Murga, R. et al.** Chlorine Inactivation of Bacterial Bioterrorism Agents. *J. Appl. Microbiol.*, 2005, 71, 1, p. 566–568.
10. **Severa, J., Cabal, J., Hartmanová, M.** Pěny jako nosiče látek s dezinfekčním účinkem. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.*, 2005, 54, p. 161–165.
11. **Wallenfels, J., Bencko, V.** Bioterorismus, od antraxu až po prostředky hromadného ničení. *Prakt. Lék.*, 2002, 82, 9, s. 516–521.
12. **Xu, Sa., Labuza, T., Diez-Gonzales, F.** Inactivation Kinetics of Avirulent *Bacillus anthracis* Spores in Milk with a Combination of Heat and Hydrogen Peroxide. *J. Food Protect*, 2008, 71, 2, p. 333–338.

Tato práce vznikla za finanční podpory Ministerstva průmyslu a obchodu ČR v rámci projektu FF-P2/115, FI-IM3/199.

Do redakce došlo 22. 3. 2010.

Doc. Ing. Jan Severa, CSc.
Všehrdova 1701
500 00 Hradec Králové
e-mail: severah@seznam.cz



Očkování proti lidským papilomavirům

Tomáš Fait a kol.

Maxdorf 2009, 118 str.
edice Preventivní medicína, sv. 1
ISBN: 978-80-7345-204-9
cena: 195 Kč
formát: 110 × 190 mm, brož.

Anotace:
Očkování proti infekci lidskými papilomaviry je ve svém důsledku prvním očkováním proti nádorovému onemocnění člověka vyvíjené s tímto primárním cílem. Mohutné klinické studie a tři roky klinické praxe s kvadrivalentní očkovací látkou Silgard® ukázaly účinnost a bezpečnost očkování proti lidským papilomavirům typu 6, 11, 16 a 18. Užití kvadrivalentní vakcíny přináší ochranu proti 80 % karcinomů hrdla děložního, cervikálním, vaginálním i vulvárním nádorovým a přednádorovým lézím, ale současně i proti benigním lézím se sklonem k rekurenci jako jsou genitální bradavice. Cílem předkládané knihy je nejen podat kompletní přehled dostupných klinických dat očkování, ale současně i podat základní informace o biologii HPV virů, etiopatogenezi základních HPV lézí, imunologii očkování, srovnání dostupných očkovacích látek, právních i psychických aspektů očkování.

Objednávky zasílejte e-mailem nebo poštou: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz. Na objednávce laskavě uveďte i jméno časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli