

Erling B Myhre, docent, överläkare, infektionskliniken, Universitetssjukhuset i Lund ([Erling.Myhre@infek.lu.se](mailto:Erling.Myhre@infek.lu.se))

## Antraxbakterien – ett biologiskt mästerverk med dödlig potential

Den medvetna spridningen av antraxsporer via brevförändelser i USA är väl dokumenterad. I Läkartidningen 50/01 gav en grupp experter ett svenskt perspektiv på antrax [1, 2]. Författarna underströk vikten av att sjukvården är observant på ovanliga händelser. I följande kommentar ges en djupare inblick i patogenes, klinisk diagnostik och terapi. Konsekvenserna av bioterroristutbrottet i USA diskuteras.

### Patogenetiska aspekter

*Bacillus anthracis*, bakterien som orsakar mjältbrand, är ett biologiskt mästerverk. Mjältbrandsbakteriens farlighet är inte knuten till bakteriens kromosomala arvsmassa, utan förmedlas av extrakromosomalt DNA i form av två plasmider [3]. Den ena plasmiden, pXo2, kodar för en polysackaridkapsel som motverkar fagocytos och gör det möjligt för bakterien att överleva i vävnader. På den andra plasmiden, pXo1, ligger en patogenicitetsö som kodar för tre funktionellt integrerade toxiner: protektivt antigen, ödemfaktor och letal faktor. Såväl kapsel som beskrivna proteiner är nödvändiga för full virulens. Antraxbakteriens patogenicitet har förmodligen evolutionsmässigt förvärvat genom lateral transmission av antingen plasmider eller virulensgener från andra mikroorganismer.

Sjukdomens patogenes är, liksom bakterien, synnerligen intressant [3]. Protektivt antigen inkorporeras i värdcellens plasmamembran och ger genom receptormedierad endocytos ödemfaktorn och den letala faktorn tillträde till cellens interna miljö (Figur 1). Inne i cellen blockeras viktiga signalvägar, vilket leder till lokal blödning med ödem och nekros. Protektivt antigen saknar alltså egen virulens, men fungerar som en obligat dörröppnare för de två andra bakterietoxinerna. Detta komplexa samspel får ses som ett uttryck för den kraft som ligger i evolutionsprocessen.

I motsats till vad som gäller andra infektionssjukdomar smittas människan förmodligen inte av vegetativa antraxbakterier utan av sporformen, som är höggradigt resistent mot ogynnsamma miljöbetingelser. Antraxsporer kan överleva i årtionden i jord och kan underhålla en naturlig livscykel i djurbestand [3]. Undersökningar av antraxsporer producerade under första världskriget visar att även under biologiskt snäva förhållanden kan sporer behålla sin viabilitet under lång tid.

Tyskland hade under första världskriget ett globalt bioterroristprogram vars syfte var att eliminera fiendens dragdjur

### SAMMANFATTAT

Mjältbrand är en biologiskt intressant sjukdom. Bakteriens virulens är inte knuten till mikrobens kromosomala arvsmassa utan förmedlas av genkomplex på två plasmider. Ett virulensprotein, protektivt antigen, sätter sig i värdcellens plasmamembran och ger två andra toxiner tillträde till cellens inre miljö, där de blockerar viktiga signalvägar.

Inhalation av antraxsporer resulterar i ett okarakteristiskt influensaliknande insjuknande, som lätt kan förväxlas med andra septiska tillstånd. Diagnosen ställs genom blododling, påvisning av agens vid mikroskopi eller polymeraskedjereaktionstest.

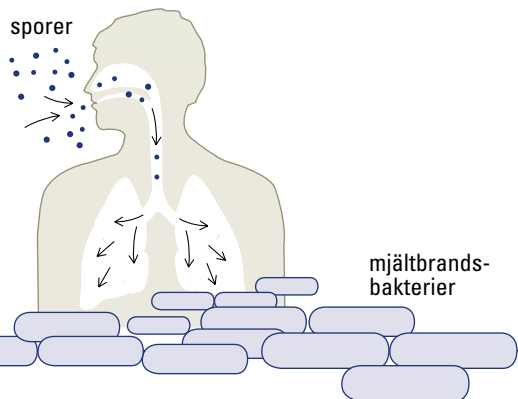
Antibiotikabehandling inkluderande ciprofloxacin eller doxycyklin måste inledas snarast. Cefalosporiner och trimetoprim-sulfametoxazol betraktas som relativt verkningslösa och skall inte användas terapeutiskt.

Utbrottet av i brev förmedlad antrax har i USA lett till striktare säkerhetsrutiner vid institutioner som arbetar med mikroorganismer användbara för bioterrorism.

med hjälp av antraxorganismer. En svensk baron, som var verksam i programmet, anhölls 1917 i Norge [4]. Han hade i sitt bagage ett stort antal sockerbitar. Dessa sockerbitar visade sig innehålla glasampuller fyllda med antraxsporer. Efter det att dessa ampuller hade legat bortglömda i ett polisarkiv i 80 år kunde en grupp forskare nyligen odla fram *B anthracis* från en av dem.

### Diagnostiska problem

Patienter med inhalationsantrax insjuknar i en influensaliknande bild, som karakteriseras av sjukdomskänsla, feber, muskelvärk, icke-produktiv hosta, eventuellt också bröst- och buksmärtor [5-7]. Efter två till tre dagar försämras tillståndet successivt med fortsatt feber, akut dyspné, förvirring och cyanos. Mediastinala lymfkörtlar förstoras kraftigt, mediastinum breddökas och trakea kan komma att komprimeras, vilket le-

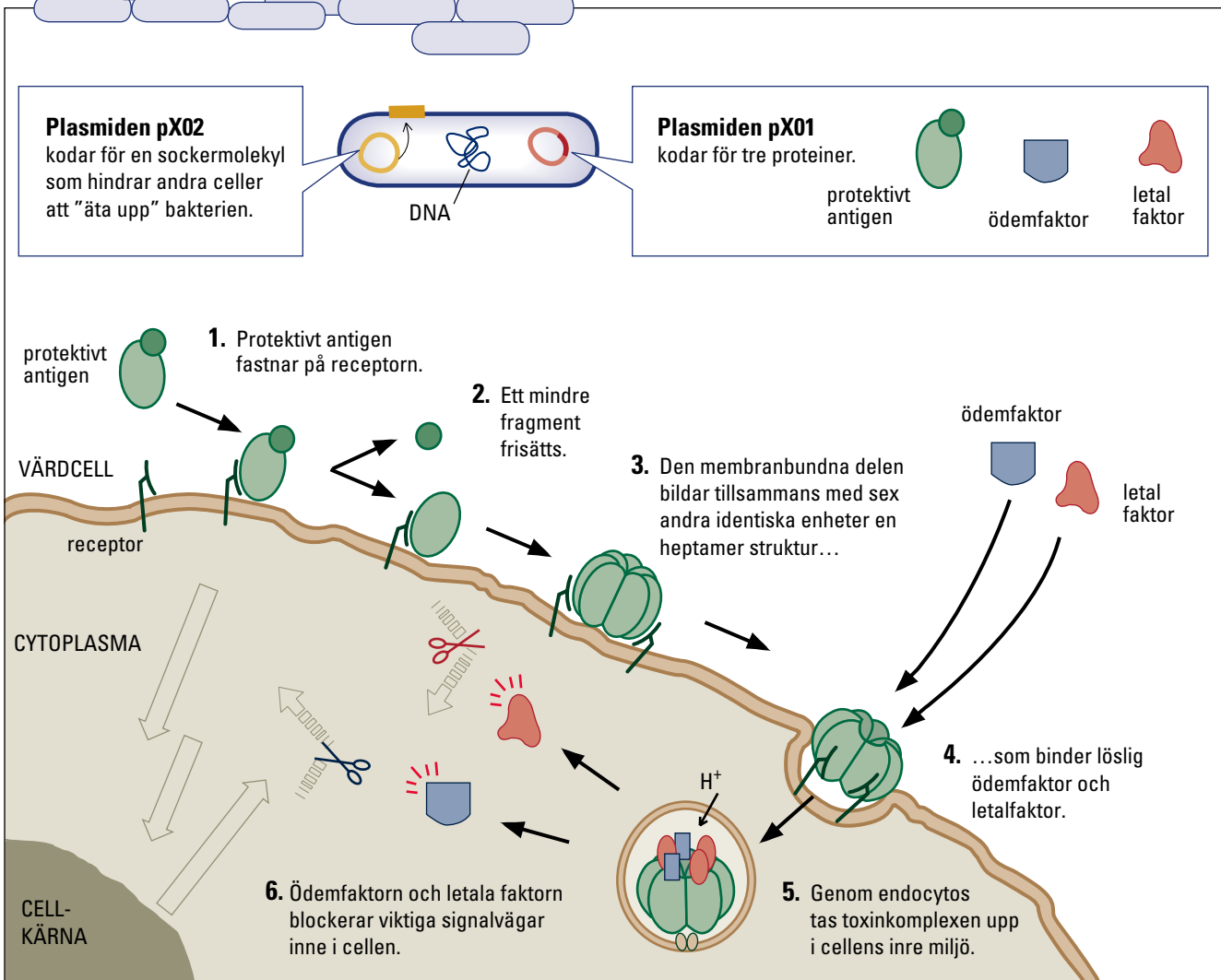


Människan smittas av sporer från replikerande mjältbrandsbakterier, *Bacillus anthracis*, som bär på två virulensplasmider. Den ena plasmiden kodar för en polysackaridkapsel, den andra för tre funktionellt integrerade proteiner: protektivt antigen, ödemfaktor och letal faktor.

Naturligt protektivt antigen är ett 80 kDA-protein med specifik affinitet för en cellreceptor på värdcellen. Efter interaktion med receptorn frisätts ett mindre fragment. Den återstående delen (PA60) bildar tillsammans med sex andra identiska enheter en heptamer struktur som binder löslig ödemfaktor och letal faktor.

Varje monomer i enheten kan förmodligen binda antingen en molekyl ödemfaktor eller en molekyl letalfaktor.

Ödemfaktorn är en kalmodulinberoende adenylycyklas, den letala faktorn är en zinkmetallproteas. Tillsammans blockerar de essentiella intracellulära signalvägar. Efter Mock och Fouet [3].



der till stridor. Subkutant ödem kan utvecklas på hals och torax. Många patienter utvecklar bakteriell meningit och blir mentalt påverkade. Sjukdomsförloppet är oftast snabbt progresserande. Cirkulationen sviktas och patienten kan komma att avlida inom två till tre dygn.

Eftersom många bakteriella och virala agens kan orsaka influensaliknande sjukdom är differentialdiagnostiken gentemot inhalationsantrax svår. Vissa symtom och kliniska fynd kan vara av diagnostisk betydelse. Tecken är nästäppa och rinnande näsa vanligt vid influensa och vid andra virala luftvägsinfektioner men inte vid inhalationsantrax [8]. Patognomona fynd vid inhalationsantrax är förstörade mediastinala lymfkörtlar, ledande till breddökning av mediastinum. Även om förändringarna syns på konventionell lungröntgen är datortomografi av torax en bättre undersökningsmetod.

Till hjälp för kliniskt verksamma läkare har Centers for Disease Control and Prevention (CDC) i Atlanta, USA, utarbetat riktlinjer för handläggning av patienter som misstänks ha varit exponerade för antrax [9]. I ett annat CDC-dokument diskuteras differentialdiagnostiken i en icke-epidemisk situation [8].

Det finns inget snabbt screeningtest för inhalationsantrax. Diagnosen bekräftas i laboratoriet genom konventionell odling, mikroskopi av gram- eller immunfärgat material eller polymeraskedjereaktionstest (PCR) [7, 10]. Blododlingar är så gott som alltid positiva vid inhalationsantrax.

## Terapival

På grund av det snabba och maligna förloppet vid inhalationsantrax måste korrekt empirisk antibiotikabehandling inledas tidigt [6, 7]. En fördröjning på några timmar kan minska patientens möjligheter att överleva. Är mängden producerat toxin i kroppen stor kan antibiotika inte förväntas påverka sjukdomsförloppet. Valet av antibiotikum bygger på ett litet antal experimentella djurstudier, på in vitro-studier av resistensförhållanden samt på kunskap om sjukdomens patogenes [11]. Ciprofloxacin eller doxycyklin betraktas som förstahandsmedel; dock utan att vara validerade i kontrollerade kliniska studier [5, 6]. Vid svår sjukdom föreslås kombination med ytterligare ett antibiotikum såsom rifampicin, vankomycin, imipenen, ampicillin, klindamycin eller penicillin. Om patienten samtidigt har en bakteriell meningit bör det särskilt övervägas att lägga till penicillin, eftersom penicillin i hög dos har god penetrans till centrala nervsystemet.

På grund av en möjlig, kliniskt betydelsefull betalaktamasproduktion kan det finnas risk för resistensutveckling under terapi med semisyntetiska penicilliner. Preparat såsom penicillin, ampicillin eller amoxicillin bör därför inte användas ensamma vid behandling av en systemisk antraxinfektion [6]. Observera att cefalosporiner inte skall användas terapeutiskt [6]. Preparat tillhörande denna antibiotikaklass är förstahandsval vid många svenska sjukhus vid oklar allvarlig infektion.

## Lätt att sprida smitta per brev

Antraxfallen i USA visar med all tydlighet att en vanlig postförsändelse kan användas för att i terroryfte sprida smittämnen. Det är knappast överraskande att personal som öppnat brev innehållande antraxsporer har insjuknat. Däremot var det oväntat att personer som enbart hade vistats i postlokaler där breven sorterats också insjuknade. Rimligen ligger förklaringen i minst två förhållanden: dels antraxpulvrets kvalitet, dels postterminalens rutiner. Enligt massmedierna var det antraxpulver som användes av vapenkvalitet, och alltså särskilt lämpat för aerosoldistribution. Postverket använder höghastighetsmaskiner för frankering och sortering av brev. Under denna process trycks breven ihop med så stor kraft att det kan

ha lett till en frisättning av sporer i aerosolform från förslutna kuvert. På vissa postkontor i USA pågår nu försök att sterilisera försändelser genom att bestråla dem. Antraxpulvrets höga kvalitet kan förklara den omfattande kontamination av stora byggnader som miljöproven vittnar om.

Det är ännu oklart vem som ligger bakom antraxbrevet i USA. Alla antraxisolaten tycks vara genetiskt lika och identiska med den sk Ames-stammen, som ursprungligen isolerades vid Iowa State University. Denna stam har distribuerats till många amerikanska forskningsinstitutioner, och den användes för produktion i det offensiva amerikanska vapenprogrammet. Enligt preliminära analyser skulle antraxpulvret kunna komma från det amerikanska vapenprogrammet. Miss-tanken grundar sig, enligt massmedierna, på fynd av kemiska ämnen som används för behandling av antraxpreparationer för att förbättra sporens aerosolegenskaper.

Det har spekulerats i att avsändaren av antraxbrevet skulle vara en amerikansk forskare, och att motivet skulle vara forskarens eget intresse av en samhällelig satsning på skydd mot biovapen. Om så är fallet har strategin varit framgångsrik; dock har priset för samhället blivit högt. Amerikanska myndigheter har efter händelsen visat sig vara beredda att avsätta betydande ekonomiska resurser för utveckling av snabba och känsliga detektionssystem för klassade bioagens, för utveckling av förbättrade vacciner och för innovativa behandlingsstrategier [12, 13]. Amerikanska hälsomyndigheter har i dagarna begärt 3 miljarder US\$ för bekämpning av bioterrorism.

Även om antraxsmittad post inte har påträffats i Sverige måste man fortsatt vara vaksam. Postförsändelser som på goda grunder misstänks innehålla eller vara kontaminerade med antraxbakterier eller annat farligt smittämne skall undersökas under betryggande omständigheter, lämpligen av personal som är van att hantera riskmaterial. Sådan kompetens finns på sjukhusens mikrobiologiska laboratorier. Visuell inspektion bör ske i samförstånd med den lokala polismyndigheten. Styrks misstanken måste föremålet undersökas med bakteriologisk odling. Föremålet skickas säkerhetsemballerat till Smittskyddsinstitutet i Solna tillsammans med fullständiga uppgifter om försändelsen.

## Konsekvenser för det civila samhället

Även om fallen i USA har varit få och dödligheten låg har utbrottet påverkat det civila samhället i flera avseenden. Det har satt i gång en diskussion om biosäkerhet och om forskningens frihet och ansvar. I USA har man redan börjat ställa striktare säkerhetskrav på individer och institutioner som förfogar över kunskap och teknologi som kan vara relevant för tillverkning av biologiska vapen. Institutioner som hanterar högpatogena mikroorganismer skall upprätta och underhålla en förteckning över sitt innehav av sådana agens samt över personal som har tillgång till stammarna [14]. Utlämnandet av klassade smittämnen till andra forskare och till andra institutioner skall också dokumenteras [14].

Personer som är psykiskt sjuka, som har begått brott eller som använder narkotika får enligt nya terroristlagar i USA inte arbeta med virus, bakterier eller toxiner som skulle kunna användas som biologiska vapen [15]. Samma regler gäller för personer från länder som klassas som terroristländer [15].

## Framtidsaspekter

Attackerna i USA den 11 september 2001 visar med all tydlighet att terroristgrupper kan vara beredda att angripa det civila samhället i en skala som saknar historiskt motstycke. Den snabba bioteknologiska utvecklingen, med tillgång till DNA-sekvensdata, öppnar helt nya möjligheter för att å ena sidan skapa farliga agens, å den andra utveckla nya och innovativa

preventiva och terapeutiska metoder [16]. Det är idag fullt möjligt att med hjälp av genetisk manipulation göra mikroorganismer antibiotikaresistenta, att öka bakteriers virulens och att förvandla apatogena organismer till sjukdomsalstrande sådana genom överföring av virulensgener.

Även om genetisk manipulering av ett agens görs i ett lovligt syfte kan resultatet bli oönskat. T ex fick en grupp forskare i Australien oväntat fram ett supervirulent muspoxisolat under arbete med ett preventionsvaccin [16]. Genterapier brottas ofta med oönskade immunreaktioner riktade mot virusvektorer som används för att föra in gener i värdcellen. Detta problem kan uppenbarligen lösas med smygande virus som immunsystemet inte kan upptäcka [17]. Sådana smygande agens skulle givetvis även kunna användas också för icke-legitima syften.

Listan över teknologier som kan missbrukas kan göras mycket lång. Redan hörs röster som vill skapa ett etiskt regelverk för att förhindra att kunskap och teknologier används för illegitima ändamål [17]. Det kan finnas forskning som inte skall göras och resultat som inte skall publiceras för att inte äventyra säkerheten i samhället. Det finns historiskt sett militär forskning och teknologi som endast behöriga har insyn i. I framtiden är det viktigt att det görs korrekta avväganden mellan nytta och risk för det civila samhället. Ledande forskare bör aktivt ta del i den diskussionen.

### Revisionsförhandlingar avslutade

Den femte revisionsförhandlingen rörande 1972 års konvention om biologiska vapen avslutades för kort tid sedan. Konventionen bygger på självkontroll, men minst två länder som signerat konventionen har brutit mot den genom att i offensiva kvantiteter producera såväl antrax som botulinumtoxin och smittkoppsvirus. Förhandlingar för att bygga in fungerande kontrollmekanismer har pågått i flera år. Problemet har varit att inspektioner av den privata högteknologiska industrin skulle medföra att representanter för andra länder skulle kunna få insyn i företagets hemligheter.

Utbrottet av brevassocierad antrax i USA förväntades blåsa nytt liv i de pågående förhandlingarna med diskussion om hur subnationell och internationell bioterrorism skulle kunna omfattas i en reviderad konvention. Tyvärr lyckades parterna inte nå enighet, och nya förhandlingar planeras om ett år.

### Referenser

1. Tegnell A, Hellers M, Wollin R, Eriksson U, Forsman M, Engstrand L, et al. Antrax – det svenska perspektivet. *Läkartidningen* 2001;98:5742-5.
2. Roffey R, Lantorp K, Tegnell A, Elgh F. Aktuellt om biologiska stridsmedel och bioterrorism. Viktigt att sjukvården uppmärksammar ovanliga händelser. *Läkartidningen* 2001;98:5746-52.
3. Mock M, Fouet A. Anthrax. *Annu Rev Microbiol* 2001;55:647-71.
4. Redmond C, Pearce MJ, Manchee RJ, Berdal BP. Deadly relic of the Great War. *Nature* 1998;393:747-8.
5. Dixon TC, Meselson M, Guillemin J, Hanna PC. Anthrax. *N Engl J Med* 1999;341:815-26.
6. Swartz MN. Recognition and management of anthrax. An update. *N Engl J Med* 2001;345:1621-6.
7. Jernigan JA, Stephens DS, Ashford DA, Omenaca C, Topiel MS, Galbraith M, et al. Bioterrorism-related inhalational anthrax: The first 10 cases reported in the United States. *Emerg Infect Dis* 2001;7:1-26.
8. Notice to readers: Considerations for distinguishing influenza-like illness from inhalational anthrax. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001;50:984-6.
9. Update: Investigation of bioterrorism-related anthrax and interim guidelines for clinical evaluation of persons with possible anthrax. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001;50:941-8.
10. Qi Y, Patra G, Liang X, Williams LE, Rose S, Redkar RJ, et al. Utilization of the rpoB gene as a specific chromosomal marker for real-time PCR detection of *Bacillus anthracis*. *Appl Environ Microbiol* 2001;67:3720-7.
11. Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, Friedlander AM, et al. Anthrax as a biological weapon: medical and public health management. Working Group on Civilian Biodefense. *JAMA* 1999;281:1735-45.
12. Enserink M. Biodefense hampered by inadequate tests. *Science* 2001;294:1266-7.
13. Cohen J, Marshall E. Bioterrorism: vaccines for biodefense. A system in distress. *Science* 2001;294:498-501.
14. Marshall E. US enlist researchers as fight widens against bioterrorism. *Science* 2001;294:1254-5.
15. Malakoff D, Enserink M. New law may force labs to screen workers. *Science* 2001;294:971-2.
16. Dennis C. The bugs of war. *Nature* 2001;411:232-5.
17. Aldhouse P. Biologists urged to address risk of data aiding bioweapon design. *Nature* 2001;414:237-8.