



## 20 LAT OŚRODKA DIAGNOSTYKI I ZWALCZANIA ZAGROŻEŃ BIOLOGICZNYCH WOJSKOWEGO INSTYTUTU HIGIENY I EPIDEMIOLOGII (WIHE) – KIERUNKI DZIAŁANIA I OSIĄGNIĘCIA

20 years of Biological Threats Identification  
and Countermeasure Center of Military Institute of Hygiene  
and Epidemiology (MIHE) – areas of activity and achievements



Aleksander Juliusz Michalski<sup>1</sup>, Krzysztof Chomiczewski<sup>2</sup>, Michał Bartoszcze<sup>3</sup>, Agata Bielawska-Drózd<sup>4</sup>, Lidia Mizak<sup>4</sup>

1. *Wojskowy Szpital Kliniczny z Polikliniką SPZOZ, Polska*
2. *Zakład Patomorfologii CSK MON WIM, Polska*
3. *Ośrodek Diagnostyki i Zwalczenia Zagrożeń Biologicznych (emerytowany kierownik), Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, Polska*
4. *Ośrodek Diagnostyki i Zwalczenia Zagrożeń Biologicznych, Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii im. gen. Karola Kaczkowskiego, Polska*

Aleksander Juliusz Michalski – 0000-0002-2517-8492

Agata Bielawska-Drózd – 0000-0002-7713-6657

Lidia Mizak – 0000-0002-1382-6683

**Streszczenie:** Praca obejmuje podsumowanie działalności Ośrodka Diagnostyki i Zwalczenia Zagrożeń Biologicznych od jego powstania do chwili obecnej. W szczególności uwzględniono unikalny wkład ośrodka dla Sił Zbrojnych RP wynikający z synergii aktywności: badawczo-rozwojowej, doradczo-ekspertckiej oraz diagnostyki klinicznej i środowiskowej w obszarze czynników biologicznych broni masowego rażenia. W ciągu 20 lat w ODiZZB skumulowano wysokiej klasy specjalistów dysponujących wiedzą, umiejętnościami, kompetencjami i doświadczeniem oraz unikalną infrastrukturą badawczą, co pozwoliło nie tylko być istotnym zapleczem dla wojskowej służby zdrowia czy obrony przed bronią masowego rażenia, ale także realizować istotne prace naukowe lub doradcze na rzecz partnerów krajowych lub zagranicznych.

**Abstract:** The work scopes a summary of the activities of the Biological Threats Identification and Countermeasure Center from its creation until now. The unique contribution of the Center for the Polish Armed Forces resulting from the synergy of research and development, advisory and expert activities as well as clinical and environmental diagnostics in the area of biological agents of weapons of mass destruction was underlined in particular. Over the 20 years, BTICC has accumulated high-class specialists with knowledge, skills, competence and experience, as well as unique research infrastructure which allowed not only to be an important player for the military health service or CBRN (chemical, biological, radiological, nuclear) defense system, but also to carry out important scientific projects or advisory works for domestic or foreign stakeholders.

**Słowa kluczowe:** broń biologiczna, WIHE, Ośrodek Diagnostyki i Zwalczenia Zagrożeń Biologicznych, prace badawczo-rozwojowe.

**Key words:** biological weapon, WIHE, Biological Threats Identification and Countermeasure Center, research and development works.

DOI 10.53301/lw/149492

Praca wpłynęła do Redakcji: 16.03.2022

Zaakceptowano do druku: 27.04.2022

**Autor do korespondencji:**

Krzysztof Chomiczewski  
Zakład Patomorfologii CSK MON WIM, Warszawa  
e-mail: kchomiczewski@onet.eu

### Geneza, cele i zadania Ośrodka Diagnostyki i Zwalczenia Zagrożeń Biologicznych (ODiZZB) w Puławach

Tradycje ODiZZB sięgają 1934 r., kiedy w Warszawie powstało Wojskowe Centrum Wyszkożenia i Badań Weterynaryjnych. Po II wojnie światowej sformowano jednostkę o tej samej nazwie dyslokowaną w Puławach

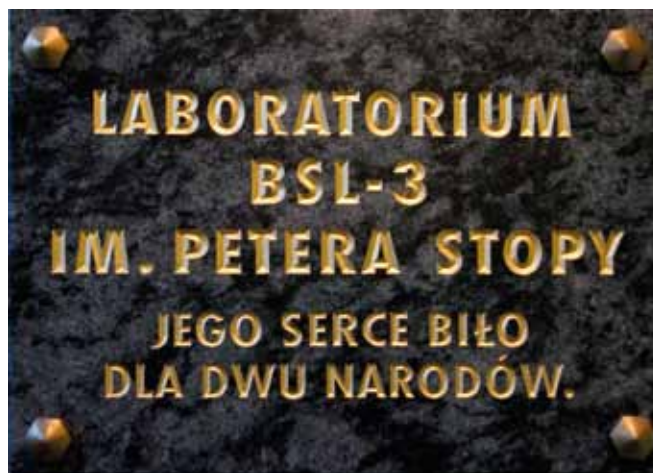
w 1949 r. W 1967 r. centrum przemianowano na Wojskowy Ośrodek Naukowo-Badawczy Służby Weterynaryjnej, który specjalizował się nie tylko w ochronie żywności przed skażeniem czynnikami broni masowego rażenia (bmr), epidemiologii czy epizootologii, ale jego szczególnym obszarem zainteresowania była także mikrobiologia medyczna i weterynaryjna [1, 2]. W 1990 r., już jako znana placówka naukowa ukierunkowana na rozwiązywanie

problemów ochrony wojska przed zoonozami oraz higienę żywności, Ośrodek Badań Weterynaryjnych zostaje włączony do Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii.

Osiągnięcia ośrodka w dziedzinie badań nad przetrwalnikami laseczki wąglika czy toksyną botulinową wzbudziły zainteresowanie nie tylko w kraju, ale i za granicą. W 1994 r. – na prośbę strony amerykańskiej – ośrodek odwiedziła delegacja *US Army Edgewood Research Development and Engineering Center* (ERDEC). Z jednej strony było to wydarzenie bez precedensu – trzy lata po rozwiązaniu Układu Warszawskiego, z drugiej zaś wpisywało się w reorientację polskiej polityki zagranicznej i proces akcesji do NATO. W tym samym roku Polska przystąpiła bowiem do programu „Partnerstwo dla pokoju” (*Partnership for Peace – PfP*). Podczas wizyty przedstawiciele ERDEC: dr Richard Smardzewski i Peter Stopy zapoznali się z zadaniami i osiągnięciami ośrodka, a następnie zaproponowali podjęcie współpracy w dziedzinie obrony przed bronią biologiczną. Efektem tej wizyty, już w następnym roku, był udział delegacji ośrodka WIHE (płk prof. Jerzego Mierzejewskiego i płk prof. Michała Bartoszcze) w konferencji naukowej organizowanej przez ERDEC. Referat prof. Mierzejewskiego o kluczowej roli gen. Kazimierza Sosnkowskiego, przedstawiciela II RP w Lidze Narodów, w ustanowieniu zakazu stosowania broni bakteriologicznej w ramach Protokołu Genewskiego z 1925 r. (tzw. „*Polish addendum*”) przyjęto z niezwykłym zainteresowaniem. Po objęciu funkcji komendanta WIHE przez płk. prof. Krzysztofa Chomiczewskiego ważnym wydarzeniem było podpisanie - 13 grudnia 1996 r. - umowy międzynarodowej z USA o wymianie informacji w dziedzinie obrony przed bronią biologiczną, która pozwoliła na dalszy rozwój wielu różnych form współpracy [3]. Były to m.in. wspólne ćwiczenia poligonowe w Dugway Proving Ground w 1998 r., w czasie których profesorowie K. Chomiczewski i M. Bartoszcze zapoznawali się z organizacją i przebiegiem testowania aparatury wykrywającej czynniki biologiczne w czasie ataku aerozolowego. Podczas kolejnych wspólnych ćwiczeń laboratoryjnych, w Salmon Test Facility USA w 1999 r., przedstawiciele ośrodka w składzie: Agata Bielawska, Urszula Szymajda oraz Michał Bartoszcze uzyskali wysoką ocenę kierownictwa ćwiczeń w zakresie umiejętności identyfikacji czynników bioterrorystycznych [3, 4].

### Zagrożenia bioterrorystyczne po 11 września 2001 r.

Kolejne lata współpracy z partnerami amerykańskimi przyniosły realizację wielu przedsięwzięć związanych z wymianą doświadczeń w obszarze szybkiego reagowania na czynniki biologiczne. W latach 1999-2002, współpracując ściśle z kierownictwem Wojskowej Służby Zdrowia, ośrodek odegrał kluczową rolę w tworzeniu krajowego systemu obrony przed bronią biologiczną i bioterroryzmem w Siłach Zbrojnych RP. Powołane w obrębie struktur Wojskowych Ośrodków Medycyny Prewencyjnej (WOMP) mobilne Zespoły Rozpoznania Biologicznego (ZRB) miały być zdolne do reagowania w rejonach swojej odpowiedzialności. Dzięki kompetentnemu personelowi były przygotowane do rozpoznania, pobrania podejrzanego materiału w miejscu zdarzenia, wykonania wstępnej identyfikacji oraz zabezpieczenia



Ryc. 1. Tablica pamiątkowa w pracowni 3. stopnia hermetyczności (Puławy).

i transportu próbek do badań potwierdzających. Zespoły wyposażono m.in. w niezbędny sprzęt, odczynniki i środki ochrony indywidualnej. Punktem centralnym i spajającym sieć ZRB i WOMP miało być referencyjne, mikrobiologiczne laboratorium stacjonarne, zdolne do definitywnego potwierdzenia potencjalnych zagrożeń biologicznych i znajdujące się w ośrodku w Puławach.

Pojawienie się zagrożenia związanego z nowym obliczem terroryzmu biologicznego i wysyłaniem tzw. „listów wąglikowych” udowodniło perspektywiczność przyjętych wcześniej założeń oraz użyteczność utworzonych struktur. Dla ośrodka w Puławach bardzo ważnym momentem było podjęcie decyzji o budowie i wyposażeniu pierwszego w Polsce laboratorium mikrobiologicznego 3. stopnia hermetyczności (*Biosafety Level-3 BSL-3*), któremu później nadano imię dr. Petera Stopy (Ryc. 1), zasłużonego w inicjowaniu współpracy z USA. Powstanie tej referencyjnej placówki możliwe było dzięki zaangażowaniu kierownictwa Biura Bezpieczeństwa Narodowego, dotacji inwestycyjnej Komitetu Badań Naukowych oraz współpracy z Ambasadą USA w Warszawie. Przedsięwzięciu ze strony amerykańskiej patronował szef Biura Współpracy Obronnej Ambasady (*Office of the Defense Cooperation*) płk Peter Podbielski i jego zastępczyni Betty Dent. Strona amerykańska wyposażyła laboratorium m.in.: w termocyklery do PCR, komory bezpiecznej pracy mikrobiologicznej, analizatory ELISA, cytometr przepływowy, wirówki, inkubatory, system filtracji HEPA, wyposażenia sterylizatorni. Przed otwarciem laboratorium odbyły się wizyty robocze w CAMR w Porton Down (Wielka Brytania) oraz audyt ekspertów amerykańskich, którzy uznali, że laboratorium w Puławach spełnia wszystkie kryteria wymagane dla tego typu obiektów i jest gotowe do eksploatacji.

Wiosną 2002 r. ośrodek wizytował Minister Obrony Narodowej Jerzy Szmajdziński. W tym samym czasie zmieniono także dotychczasową nazwę na obecną: Ośrodek Diagnostyki i Zwalczania Zagrożeń Biologicznych WIHE. 26 kwietnia 2002 r. uroczyście otwarto laboratorium BSL-3, które włączyło się aktywnie do walki z zagrożeniem ze strony wąglika oraz stworzyło możliwości prowadzenia badań na żywych kulturach *in vitro* ze szczególnie niebezpiecznymi czynnikami biologicznymi trzeciej grupy zagrożenia (m.in. *Y. pestis*, *F. tularensis*, *E. coli* EHEC, *C. botulinum*). Prowadzono cenne prace nad izolacją prze-

trwalników *B. anthracis* z grzebowisk [5], luminometrycznym wykrywaniem przetrwalników laseczki węglik [6] oraz działaniem czynników biobójczych na laseczkę węglik [7, 8].

Współpraca z USA była kontynuowana, a ważnym etapem doskonalenia gotowości diagnostycznej i rozwoju naukowego kadry było uzyskanie stypendiów naukowych DARPA (*Defense Research Project Agency*) przez pracowników Ośrodka (Agata Bielawska, Urszula Szymajda, Beata Osiak, Dorota Żakowska, Marcin Niemcewicz, Jerzy Gaweł) w prestiżowym Instytucie Biologii Molekularnej i Medycyny Uniwersytetu w Scranton w USA. Pracownicy ośrodka zdobyli doświadczenie i dużą wiedzę w zakresie identyfikacji drobnoustrojów metodami biologii molekularnej, w tym różnymi odmianami PCR (*polymerase chain reaction*). Po powrocie zasilili potencjał naukowy i profesjonalny ośrodka (ryc. 2). Z czasem opublikowali także szereg cennych artykułów naukowych [9-12] i dysertacji doktorskich.

Wydarzenia międzynarodowe w 2003 r. były kolejnym probierzem tworzonych systemu. Na potrzeby misji poza granicami kraju opracowano w ośrodku koncepcję wyposażenia i działania mobilnego laboratorium, zdolnego do wykonania pełnego rozpoznania mikrobiologicznego z zastosowaniem technik PCR system RAPID oraz pozwalającego na identyfikację w warunkach polowych 12 czynników biologicznych o potencjale bioterrorystycznym. Laboratorium zdolne było także do wykonania klinicznych lub środowiskowych badań mikrobiologicznych, w zależności od potrzeb kontyngentu. Pierwsza obsada laboratorium mobilnego podczas II wojny w Zatoce Per-

skiej składała się głównie z oficerów puławskiego ośrodka [13].

Biorąc pod uwagę dwustronne korzyści polsko-amerykańskiej współpracy, w maju 2004 r. przedłużono umowę z USA – Załącznik o Wymianie Informacji IEA-A-03-PL-1688. Przewidywała ona prowadzenie badań, testowanie wyposażenia, procedur, odczynników i technik wnoszących wkład w obronę przed czynnikami biologicznymi. Komisarzem technicznym projektu ze strony polskiej był przedstawiciel ośrodka prof. Michał Bartoszcze, amerykańskiej – wspomniany dr Peter Stopa. Dzięki przedłużonej umowie, przedstawiciel ośrodka mjr Aleksander Michalski ukończył unikalne kursy doskonalące w USA (ryc. 3) w zakresie bezpieczeństwa biologicznego (*biosafety, biosecurity*) w Instytucie Badawczym Chorób Zakaźnych Armii USA (2005 r.) oraz Instytucie Eagleson w USA (2012 r.).

W tym czasie w ośrodku realizowano wiele ambitnych zadań, wykorzystując zarówno doświadczoną kadrę mikrobiologów, pracowników przeszkolonych w USA, jak również przyjętych do pracy biotechnologów, których szkolono intensywnie w technikach identyfikacji mikroorganizmów z zastosowaniem metod biologii molekularnej oraz technik klonowania, w tym heterologicznej ekspresji i separacji białek immunogennych [14, 15].

Zwieńczeniem wieloletniej współpracy z USA była wizyta ambasadora Victora Ashe (2005 r.), który osobiście zapoznał się z imponującymi efektami współdziałania ośrodka z *US Army* w dziedzinie obrony przed bronią biologiczną, szybką diagnostyką, udziałem przedstawi-



Ryc. 2. Analiza wyników rozdziatu elektroforetycznego produktów reakcji PCR w Pracowni Biologii Molekularnej (Puławy, 2004 r.).



Ryc. 3. Szkolenie w warunkach BSL-4 (USA, 2005 r.).

cieli ośrodka w alianckich misjach w Iraku oraz wynikami szkolenia personelu w USA.

### Zagrożenie chorobami wirusowymi oraz pandemią grypy

Eradykacja wirusa ospy w skali globalnej oraz niedoceniecie potencjału wirusa grypy powodowało, że zagrożenie czynnikami wirusowymi nie było właściwie doceniane przez służbę zdrowia. Sytuacja ta zmieniła się, kiedy pojawiły się informacje o wystąpieniu w 2003 r. na świecie a w 2006 r. w Polsce, niebezpiecznej choroby – wysoce patogennej grypy ptaków (HPAI A/H5N1). Globalne poruszenie związane z pojawieniem się w 2009 r. nowej odmiany tzw. grypy świńskiej (A/H1N1) trwale zmieniło spojrzenie na zagrożenia wirusami. W ośrodku już od 2006 r. rozpoczęto prace koncepcyjne nad utworzeniem i uruchomieniem nowej jednostki organizacyjnej – nowoczesnego laboratorium wirusologicznego, w którym możliwe byłoby prowadzenie badań nad szczególnie niebezpiecznymi wirusami. Ponownie, dzięki współpracy z USA oraz włączeniu ośrodka do amerykańskiego globalnego systemu GEIS (*Global Emerging Infections Surveillance and Response System*), udało się w latach 2008-2013 pozyskać granty na remont i wyposażenie pracowni 2. stopnia hermetyczności (BSL-2), którą uroczystie otwarto w 2010 r. w obecności przedstawicieli resortu Obrony Narodowej i ambasady USA. Uruchomienie laboratorium umożliwiło kontynuację i realizację projektu monitoringu wirusów grypy, ze szczególnym naciskiem na szczepy o potencjale pande-

micznym, zarówno w SZ RP w kraju, jak i zagranicą. Dużym osiągnięciem było zastosowanie, po raz pierwszy na tak szeroką skalę, wielokierunkowej analizy molekularnej czynników etiologicznych zachorowań grypopodobnych oraz skali infekcji bakteryjnych, wirusowych i bakteryjno-wirusowych [16]. W badaniu udowodniono, że to nie wirusy grypy, a sezonowe koronawirusy i enterowirusy były najczęściej wykrywane u osób objawowych.

Ważnym etapem świadczącym o dobrym warsztacie nowej jednostki organizacyjnej był udział zespołu wirusologów z ośrodka (w latach 2009-2011) w projekcie Narodowego Centrum Badan i Rozwoju, który miał na celu wykrycie *in vitro* najbardziej aktywnych związków nienukleozydowych przeciwko różnym szczepom wirusa grypy. Następnie (w latach 2013-2014), dzięki dotacji SPUB z MNiSW, w pracowni zainstalowano systemy filtracji HEPA i kontroli podciśnienia oraz zmodernizowano system dekontaminacji ścieków, co pozwoliło przekształcić ją w kompleks laboratoriów 2. i 3. stopnia hermetyczności (BSL-3+ z opcją „*shower out*”). Pozwoliło to na podjęcie ponownych badań seroprevalencji i badań środowiskowych nad obecnością w Polsce niebezpiecznych wirusów Hanta, czynników etiologicznych gorączki krwotocznej z zespołem nerkowym [17]. Na Podkarpaciu nasz zespół po raz pierwszy w Polsce wykazał występowanie wirusów Dobrawa, Puumala w rezerwuarze zwierzęcym w bardzo bliskim sąsiedztwie wykrytego już wcześniej w centralnej Polsce wirusa Tula. Warto podkreślić, że wiele lat wcześniej naukowcy z Puław (prof. J. Mierzejewski, prof. M. Bartoszcze) i prof. Józef Knap z Warszawy, jako pierwsi zwrócili uwagę na zagrożenia ze strony tych wirusów w Polsce [18].

W kolejnych latach (2016-2020) realizowano w ośrodku projekty w ramach „Mil-NPZ” - Narodowego Programu Zdrowia, które miały na celu identyfikację zagrożeń wirusowych przenoszonych przez stawonogi na poligonach oraz miejscach stacjonowania polskich kontyngentów poza granicami kraju.

W ciągu 20. lat funkcjonowania ośrodka jego przedstawiciele inicjowali i wspierali działania na rzecz powołania w Polsce laboratorium 4. stopnia hermetyczności do pracy z najbardziej niebezpiecznymi wirusami krwotocznymi oraz ospą prawdziwą [19]. Brak takiego obiektu stanowi o istotnej luce zabezpieczenia w zakresie diagnostyki wysoce niebezpiecznych chorób. Dotychczas w Polsce nie utworzono jednak takiego laboratorium, a najbliższe są w Czechach, Niemczech i Białorusi.

### Krajowa i międzynarodowa działalność ekspercka oraz szkoleniowa

Podjęcie przez ośrodek wyspecjalizowanych zadań prowadziło do gromadzenia wiedzy i kompetencji przez jego pracowników. Naturalną tego konsekwencją było dzielenie się doświadczeniem z innymi służbami. Szczególnie ważne były tematy związane z epidemiologią czynników biologicznych broni masowego rażenia, pobieraniem próbek, analizą polową i laboratoryjną, bezpieczeństwem biologicznym i środkami ochrony osobistej. Zwykle były to jednorazowe, tematyczne lub cykliczne szkolenia dla personelu WOMP, Centrum Re-



Ryc. 4. Szkolenie zespołów próbobiorczych (Puławy, 2012 r.).

agowania Epidemiologicznego SZ RP czy Centralnego Ośrodka Analizy Skażeń, a także dla jednostek resortu spraw wewnętrznych – Państwowej Straży Pożarnej, BOR, CBS (ryc. 4). Zdobycie i doskonalenie umiejętności przez pracowników ośrodka w zakresie diagnostyki środowiskowej zaowocowało ich zaangażowaniem w proces certyfikacji zespołów Wielonarodowego Batalionu Obrony przed Bronią Masowego Rażenia 12 zestawu SO NATO na poligonie w Drawsku Pomorskim pod kątem pobierania próbek i wykrywania czynników biologicznych.

Ośrodek był również organizatorem konferencji naukowych o zasięgu krajowym i światowym. Były to spotkania poświęcone nowoczesnym metodom diagnostycznym (2002 r.), czy obronie przed bioterroryzmem („*Protection against bioterrorism*”) w 2003, 2004, 2005 i 2006 r. Podczas tych ostatnich propagowano nowe metody działania w przypadku zaistnienia sytuacji kryzysowych na skalę masową. Dużym zainteresowaniem cieszyły się spotkania poświęcone zdarzeniom terrorystycznym (wspólnie z WIM Warszawa w 2007 r.), przygotowaniu szpitali do zdarzeń masowych oraz metodom reagowania służb na zdarzenia biologiczne (wspólnie z 1 WSzKzP Lublin w 2009 r.). Konferencje z udziałem specjalistów zagranicznych pozwalały na poznanie światowych trendów w zarządzaniu sytuacjami kryzysowymi. Organizowano również pokazy sprzętu i technologii przeznaczonych do rozwiązywania sytuacji nadzwyczajnych o dużym zasięgu (masowa dezynfekcja ludzi i środowiska), dając także impuls dla rozwoju krajowego przemysłu obronnego.

Odrębnym wydarzeniem podsumowującym resortowe prace badawcze nad klonowaniem genów białek immunogennych [15, 20] były zorganizowane w 2014 r. warsztaty wakcynologiczne „Szczepionki przeciwko szczególnie niebezpiecznym chorobom zakaźnym”. Zidentyfikowane wtedy tezy o dostępności szczepionek znalazły potwierdzenie podczas obecnej pandemii.

Unikalna wiedza fachowa i doświadczenie personelu ośrodka były istotnym czynnikiem konkurencyjnym i umożliwiały uczestnictwo w projektach eksperckich i pomocowych. W latach 2007-2008 realizowany był projekt BIO3R – *Bioterrorism – Readiness, Response, Resilience*, I-022639, mający na celu opracowanie procedur postępowania w różnych scenariuszach użycia czynników biologicznych. W latach 2010-2014 ośrodek w Puławach był liderem projektu pomocowego

Komisji Europejskiej dla Ukrainy w zakresie bezpieczeństwa biologicznego „*Bio-Safety and bio-security improvement at the Ukrainian Antiplague station (UAPS) in Simferopol*” – projekt nr IFS/2010/248-957. Projekt ten ze względu na aneksję Krymu nie został ukończony. Kolejne projekty pomocowe UE były pozyskiwane w ramach europejskiej sieci Centrów Doskonałości Obrony Przed Bronią Masowego Rażenia (CBRN CoE). Wspólnie z partnerami z Włoch, Hiszpanii, Francji oraz Słowacji realizowane były projekty ukierunkowane na: poprawę bezpieczeństwa biologicznego w laboratoriach na Bliskim Wschodzie (projekt CoE nr 25 BIO-OPERATE w latach 2013-2016), poprawę zdolności reagowania służb ratowniczych na zdarzenie czynnikami broni masowego rażenia na Bliskim Wschodzie (CoE nr 34 w latach 2013-2017), poprawę zarządzania odpadami niebezpiecznymi na Kaukazie (CoE nr 65 CABICHEM w latach 2017-2020). Dużym wyzwaniem dla ośrodka był udział w projekcie edukacyjnym Komisji Europejskiej wraz z Uniwersytetem Łódzkim, Wojskowym Instytutem Chemii i Radiometrii, INSEMI (Słowacja), Biurem Operacji Antyterrorystycznych Komendy Głównej Policji oraz Wyższą Szkołą Policji w Szczytnie, który miał na celu organizację studiów podyplomowych dla koordynatorów bezpieczeństwa obrony przeciw broni masowego rażenia (*opbmr*). W latach 2016-2018 studia ukończyło kilkudziesięciu uczestników z całej UE, a powstałe materiały edukacyjne i podręczniki będą mogły służyć w kolejnych edycjach tych studiów. Celem wciąż realizowanego międzynarodowego projektu Komisji Europejskiej „Mall-CBRN” jest identyfikacja niedoskonałości, potrzeb i wzmocnienie ochrony *opbmr* sklepów wielkopowierzchniowych. W projekt zaangażowani są nie tylko partnerzy komercyjni, ale eksperci ze świata naukowego oraz służb państwowych właściwych dla *opbmr*.

Niezależnie od realizacji projektów eksperci ośrodka byli powoływani do udziału w licznych gremiach doradczych: w resorcie ON, Biurze Bezpieczeństwa Narodowego, komitetach doradczych NATO. Przedstawiciele ośrodka (M. Bartoszcze, M. Niemcewicz, A. Michalski) reprezentowali Wojskową Służbę Zdrowia w grupach doradczych COMEDS NATO (*Force Health Protection, BioMedAdC*), NATO Land Group 7 Expert Subgroup on Sampling and Identification of Biological, Chemical and Radiological Agents oraz HFM OO5 Group. Istotnym wkładem ośrodka w podniesienie stopnia świadomości zagrożeń biologicznych na wyższych szczeblach administracji, reagowania na zagrożenia, wskazywania optymalnych rozwiązań, doskonalenia systemu, kreowania współpracy międzynarodowej było zaangażowanie w 2003 r. specjalistów z WIHE (prof. K. Chomiczewskiego i prof. M. Bartoszcze z ośrodka) przez szefa BBN do Zespołu ds. Oceny Zagrożeń Biologicznych przy Biurze Bezpieczeństwa Narodowego pod kierunkiem prof. Stanisława Majcherczyka. Zespół prowadził bardzo aktywną działalność w walce z zagrożeniami biologicznymi, organizując szereg konferencji i spotkań, dotyczących zwłaszcza zwalczania grypy, także na bazie ośrodka w Puławach.

Ważnym wydarzeniem o skali międzynarodowej były globalne ćwiczenia sztabowe „*Atlantic Storm*” (2005 r.) w Waszyngtonie. Przedstawiciele poszczególnych krajów realizowali tam interaktywny scenariusz bioterrorystyczny

w zakresie reagowania na zwalczanie ospy prawdziwej. Jednym z konsultantów delegacji z Polski pod kierunkiem byłego premiera prof. Jerzego Buzka, był prof. M. Bartoszcze – kierownik ODiZZB. Cwiczenia wskazały na bezbronność krajów świata na tę eradykowaną i niemal zapomnianą chorobę, niechęć do udzielenia wzajemnej pomocy oraz ograniczone zapasy szczepionek. Wnioski z ćwiczeń były impulsem do ponownej ewaluacji planów reagowania na taki atak oraz opracowania i produkcji nowych, bezpiecznych szczepionek lub znalezienia skutecznych leków przeciw temu wirusowi. Prof. M. Bartoszcze w 2010 r. został powołany przez szefa BBN do prestiżowego zespołu ekspertów rekomendującego obszary problematyki obrony przed bronią biologiczną do Strategicznego Przeglądu Bezpieczeństwa Narodowego oraz pierwszej tego typu w Europie – Białej Księgi Bezpieczeństwa Narodowego.

Przedstawiciele ośrodka wielokrotnie byli zaangażowani w prace oraz raportowanie dotyczące konwencji o zakazie broni biologicznej i toksynowej (BTWC). Ważnym głosem w dyskusji nad uzupełnieniem krajowych regulacji w zakresie bezpieczeństwa biologicznego (*biosafety/biosecurity*) [21] był udział przedstawiciela ośrodka (A. Michalski) w latach 2011-2018 w grupie ekspertów przy MSZ. Celem działania grupy było wypracowanie mechanizmów prawnych implementujących rekomendacje konferencji przeglądowych BTWC, a zwłaszcza postanowienia Rezolucji Rady Bezpieczeństwa ONZ nr 1540 z 2004 r. w zakresie czynników biologicznych (m.in. reglamentacja, kontrola wykorzystania, standardy ochrony fizycznej oraz bezpieczeństwa osobowego, rewidowalna ewidencja jakościowo-ilościowa).

## Okres rozwoju i implementacji nowoczesnych technologii

### ■ Diagnostyka molekularna

Techniki diagnostyki molekularnej, jako szybkie i precyzyjne metody detekcji i identyfikacji szczególnie niebezpiecznych czynników, były od początku stosowane w wykrywaniu czynników *bmr*. Prace badawcze w ośrodku początkowo obejmowały metody w oparciu o technikę łańcuchowej reakcji polimerazy DNA (PCR) z analizą produktów za pomocą elektroforezy. Później wykorzystywano metody RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) [9], REP-PCR (*repetitive sequence polymorphism*) [10] do różnicowania szczepów grupy *Bacillus cereus*. Prrowadzono badania i testowano możliwości wykorzystania zaawansowanych technik PCR- ELISA, PCR-CLEIA (*chemiluminescence enzyme immunoassay*) [21] lub analizy produktów PCR z wykorzystaniem cytometru przepływowego [22]. W późniejszych latach wykorzystano nowocześniejszą technologię *real-time* PCR, także w reakcjach multipleksowych. Pozwalało to na subtypowanie na poziomie gatunku, podgatunku oraz badanie zjadliwości izolatów. Optymalizację detekcji i identyfikacji molekularnej *real-time* PCR rozpoczęto od laseczki węglik *B. anthracis*, należącej do homogennej grupy *Bacillus cereus*, co implikowało konieczność odróżnienia od innych gatunków [23]. W tym zakresie warto podkreślić realizację pionierskich prac nad zastosowaniem analizy makrorestrykcyjnej do różnicowania tej grupy. Metoda PFGE (*puls field gel electrophoresis*) okazała się skuteczna w celu

odróżnienia spokrewnionych bakterii grupy *Bacillus cereus* [11]. Inna metoda wykorzystana z powodzeniem do różnicowania tej grupy to MLST (*multilocus sequence typing*) [24]. W kolejnych latach opracowywano algorytm identyfikacji molekularnej toksynogennych szczepów przecinkowca cholery (*V. cholerae*) za pomocą konserwatywnej sekwencji genów, pozwalającej na odróżnienie szczepów toksynogennych (wywołujących cholere) oraz różnicowanie serotypu O1 na biotypy (*El Tor* lub *classical*), a także dla odróżnienia grupy O1 od O139 [25].

Istotnym tematem badawczym była optymalizacja wykrywania i różnicowania czynnika etiologicznego gorączki Q (*C. burnetii*). W analizie występowania patogenu, w środowisku gospodarstw rolniczo-hodowlanych (zwierzęta hodowlane i stawonogi, kleszcze i wymazy środowiskowe), udowodniono skuteczność opracowanych metod diagnostyki molekularnej. Dla uzyskanych izolatów zastosowano metodę różnicowania MST (*multispacer typing*) opartą na sekwencjonowaniu fragmentów międzygenowych (*intergenic spacers*) [26].

W diagnostyce molekularnej pałeczki tularemii (*F. tularensis*) z użyciem sond hybrydujących i wykorzystujących zjawisko FRET uzyskano wysoką specyficzność i czułość. Ponadto dla różnicowania czterech podgatunków pałeczki tularemii (typ A, typ B oraz *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* i *F. tularensis* subsp. *novicida*), zastosowano w reakcjach typu duplex zorientowanych na inne regiony genów. Metody opracowane w Puławach są wygodnym narzędziem diagnostycznym umożliwiającym określenie stopnia zjadliwości wykrytego patogenu, a w określonych warunkach także źródła pochodzenia [27].

W ostatnich latach nastąpił postęp związany z technologią sekwencjonowania (*next generation sequencing* NGS). Dzięki środkom z projektów Europejskiej Agencji Obrony (*European Defense Agency* - EDA) udało się pozyskać kompaktowy sekwenator nowej generacji MiSeq (Illumina) oparty o technologię SBS (*sequencing by synthesis*), a ostatnio także sekwenator nanoporowy MinION (Oxford Nanopore Technologies). Te dwie platformy doskonale uzupełniają swoje właściwości, pozwalając na zaawansowane analizy genetyczne i filogenetyczne bakterii oraz wirusów, co zostało skutecznie wykorzystane w badaniach nad nowymi wariantami wirusa SARS-CoV-2.

### ■ Kolekcja szczepów czynników biologicznych *bmr*

W ciągu wielu lat ośrodek, poprzez izolację z próbek środowiskowych lub klinicznych oraz wymianie, zgromadził unikalną kolekcję szczepów bakteryjnych i wirusów. Kolekcja ta służy nie tylko doskonaleniu technik diagnostycznych i testów kontrolnych, ale jest istotnym punktem odniesienia w badaniach naukowych nad nowymi izolatami czy dochodzeniu epidemiologicznym z wykorzystaniem technik biologii molekularnej na wypadek użycia broni biologicznej lub ataków bioterrorystycznych. Kolekcja pozwala na wykorzystanie jej w testowaniu nowych substancji przeciwwirusowych lub przeciwbakteryjnych, opracowywaniu nowych testów diagnostycznych (badania swoistości) albo testowaniu skuteczności nowych substancji biobójczych. Potencjał ośrodka w tym zakresie został zdyskontowany od 2009 r. poprzez udział w trzech wielonarodowych projektach Europejskiej Agencji Obro-

ny (*Database of B Agents, European Biodefense Laboratory Network – EBLN*). Ich celem było scharakteryzowanie kolekcji szczepów, będących w posiadaniu wybranych instytucji w poszczególnych państwach, metodami biologii molekularnej (m.in. *MLST, MLVA, SNP* czy nawet *WGS*) oraz fenotypowymi. Pozyskane dane, wyniki badań oraz informacje dotyczące poszczególnych szczepów bakterii i wirusów gromadzone są w rozwijanej wspólnie Bazie Danych na cyfrowej platformie Bio-Numerics. Zestaw cech danego szczepu, charakteryzujących czynniki biologiczne np. sekwencje, profile, stanowi unikalną jego cechę – „odcisk palca”. Informacje te mogą okazać się bardzo przydatne dla ewentualnego wykorzystania dla celów porównawczych, w przypadku wykrycia czynnika w środowisku lub w próbach klinicznych. Porównanie z bazą danych może prowadzić do postawienia pewnych podejrzeń lub poszlak o pochodzeniu czynnika. Dodatkowym celem projektów jest wymiana doświadczeń i najlepszej praktyki oraz standaryzacja metod w zakresie laboratoryjnej detekcji, identyfikacji i charakterystyki czynników. Wymiana tak ważnych informacji, dotychczas wzajemnie niedostępnych między krajami Europy, wzmacnia potencjał obronny UE oraz szybkość reakcji w przypadku użycia broni biologicznej.

### ■ Ćwiczenia porównawcze

Międzylaboratoryjne testy biegłości są ważne nie tylko w obszarze diagnostyki medycznej (np. *PolMicro*), ale także w detekcji i identyfikacji czynników *bmr*. Nabycie zewnętrznie zweryfikowanych umiejętności przez zespoły laboratoryjne jest kluczem do skutecznego reagowania w sytuacjach realnego użycia groźnych bakterii, wirusów i toksyn. Ośrodek, jako jedyna placówka naukowa naszego kraju, uczestniczył już od 2000 r. w ćwiczeniach typu „*round-robin*” NATO-SIBCRA w zakresie czynników biologicznych. Poświęcone były one doskonaleniu i sprawdzeniu możliwości identyfikacji czynników biologicznych przesyłanych do poszczególnych krajów w postaci zakończonych próbek.

W listopadzie 2014 r. odbyły się ćwiczenia dochodzenia domniemanego użycia broni biologicznej w ramach mechanizmów Sekretarza Generalnego ONZ, zorganizowane przez Instytut Roberta Kocha oraz MSZ Niemiec w Berlinie przy współudziale Biura ds. Rozbrojenia ONZ (UNDOA). Departament Polityki Bezpieczeństwa MSZ desygnował WIHE, jako przedstawiciela naszego kraju na te wydarzenie. Powstał podzespół zadaniowy – laboratorium polowe, a dyrektor WIHE płk. dr Janusz Kocik został powołany do ścisłego dowództwa ćwiczeń. Brało w nich udział ponad 70 uczestników i obserwatorów z różnych państw świata, a ponadto zespoły próbobiorcze z Danii i Portugalii, laboratoria polowe z Polski i Kanady, zespoły dochodzenia epidemiologicznego z Norwegii oraz reprezentanci Interpolu i WHO. Ćwiczenia były ważnym elementem przygotowania państw na wypadek kryzysu biologicznego.

Kolejne ćwiczenia biegłości realizowane są dzięki uczestnictwu ośrodka w europejskiej sieci laboratoriów wirusologicznych (sieć ENIVD, a od 2015 r. EVD LabNet). W 2017 r. były to wirusy neurotropowe (TOSV, WNV, TBEV, USUV), w 2018 r. wirus żółtej gorączki (YFV) oraz w 2019 r. wirusy Orthopox (Cowpox-CWPX, Monkey

pox-MPXV or Vaccinia-VACV). Natomiast Robert Koch Institute (Niemcy) od 2018 r. w ramach projektu UNSGM RefBio jest organizatorem ćwiczeń EQAEb (*External Qualified Assurance Entity*). Ośrodek brał udział w testach biegłości RKI dotyczących: pałeczki dżumy (2018), wirusów Orthopox (2018) oraz wirusa SARS CoV-2 (2020). Ośrodek regularnie uczestniczył w ćwiczeniach dla uzyskania biegłości diagnostycznej oraz zweryfikowania istniejących schematów diagnostycznych i procedur.

### ■ Bakteriofagi i enzymy fagowe

W obliczu coraz częstszego pojawiania się szczepów bakterii wielolekoopornych na całym świecie, dużego znaczenia nabrało poszukiwanie leków alternatywnych dla antybiotyków. Tropienie bakteriofagów oraz związanych z nimi enzymów litycznych (fagolizyn) od roku 2002 r., kiedy uruchomiono Pracownię Bakteriofagów w Puławach, było istotnym wkładem naukowym ośrodka w rozwój nowatorskich metod terapii. Pracownia podjęła wyzwanie poszukiwania i szczegółowej charakterystyki oraz kolekcjonowania bakteriofagów litycznych w stosunku do lekoopornych bakterii istotnych klinicznie, a także będących potencjalnymi czynnikami bioterrorystycznymi. Szczególną uwagę poświęcono endolizynom bakteriofagowym oraz możliwości zwalczania biofilmów z użyciem fagów i rekombinowanych enzymów. Prace związane z bakteriofagami litycznymi w stosunku do *Bacillus anthracis* (w latach 2014-2022) pozwoliły m.in. na udział w międzynarodowym projekcie „*Anthrax Environmental Decontamination Network – Marie Curie Actions*”. Celem projektu jest porównanie otrzymanych metodą klonowania lizyn kodowanych przez fagi lityczne wobec *B. anthracis* oraz ocena ich działania litycznego na komórki wegetatywne szczepów wąglika i innych bakterii z grupy *Bacillus cereus*, ale przede wszystkim na endospory, których skuteczne i bezpieczne dla środowiska zwalczanie stanowi trudny problem [28]. Poszukiwania fagolizyn, aktywnych w stosunku wobec bakterii infekujących rany, jak np. *Staphylococcus aureus* MRSA (metycylinooporne), znalazły się w polu zainteresowania amerykańskiej agencji DARPA, która sfinansowała badania naukowe prowadzone w ośrodku (2009-2011). Celem tego prestiżowego projektu była izolacja i selekcjonowanie wirulentnych bakteriofagów aktywnych w stosunku do MRSA oraz otrzymanie oczyszczonej, aktywnej biologicznie endolizyny gronkowcowej lizującej szczepy MRSA, z możliwością jej praktycznego dalszego zastosowania klinicznego.

### ■ Współpraca w obszarze inżynierii medycznej i wojskowej

Dysponowanie kolekcją czynników biologicznych *bmr* oraz doświadczeniem w ich hodowlach *in vitro* powodowało, że współpraca ośrodka z partnerami realizującymi prace rozwojowe w dziedzinie inżynierii wojskowej i medycznej stanowiła ważny punkt jego aktywności. Partnerstwo dotyczyło opracowywania nowych urządzeń do detekcji i identyfikacji czynników biologicznych, jak również tworzenia samych laboratoriów polowych.

Współpraca z Wojskowym Instytutem Chemii i Radiometrii przy projekcie MIDAS i tworzeniu Mobilnego Laboratorium Obrony Przed Bronią Masowego Rażenia (w latach 2004-2005) pozwoliła na stworzenie nowo-

czesnego zestawu kołowego dającego możliwość identyfikacji czynników biologicznych w hermetycznych warunkach w pobliżu pola walki. Wysiłek ten doceniono w Kielcach w 2006 r. nagrodą Grand Prix na XIV Międzynarodowym Salonie Przemysłu Obronnego. W latach 2005-2008 ośrodek współpracował z Instytutem Optoelektroniki WAT przy projekcie FABIOLA. Instytut skonstruował detektor typu LIDAR (*Light Detection and Ranging*) średniego zasięgu do zdalnego wykrywania skażeń biologicznych w powietrzu, podczas biologicznego ataku aerozolowego. Wspólnie z ośrodkiem stworzono, niezbędną do dyskryminacji zagrożenia, bazę danych widm fluorescencyjnych biofizycznych – determinantów bioaerozoli, obejmujących czynniki o dużym zagrożeniu dla zdrowia publicznego. Zastosowanie włókien polianilinowych do detekcji, a nawet identyfikacji czynników biologicznych, znalazło uznanie w agencji DARPA, która sfinansowała badania (w latach 2009-2011) na realizację projektu: „*Nanobiodetector for spore forming bacteria*”. We współpracy z zespołem prof. Jerzego Langerza z Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu uzyskano istotny postęp w odróżnianiu bakteryjnych form wegetatywnych od przetrwalników z użyciem nanobiodetektora [29].

Unikalnym przedsięwzięciem był projekt NCBiR „Mobilne Laboratorium Poboru Próbek i Identyfikacji Zagrożeń Biologicznych SFORA” (2011-2014). Udział aż 12 konsorcjantów, a także synergia wiedzy oraz kompetencji z obszaru inżynierii i konstrukcji oraz nauk przyrodniczo-medycznych, umożliwiło bezprecedensowy rozwój czysto krajowych technologii. Kierownikiem projektu był płk dr hab. J. Kocik, a ośrodek w Puławach odgrywał w nim bardzo istotną rolę w opracowaniu koncepcji i w testach. Efektem projektu był nowoczesny prototyp laboratorium polowego w standardzie 3. stopnia hermetyczności na bazie kontenera 30', z systemem gazowej dekontaminacji wnętrza oraz samozaładowczym. Laboratorium było zintegrowane z robotem (UGV) zdolnym do zdalnego pobierania w terenie próbek podejrzanych o skażenie i posiadającym możliwości wstępnej identyfikacji zagrożeń, dzięki zamontowanym na nim detektorów skażeń biologicznych (ryc. 5). Dalsza analiza była zaplanowana w laboratorium hermetycznym, które wyposażone zostało w aparaturę zdolną do precyzyjnej identyfikacji patogenów metodami biologii molekularnej, z sekwencjonowaniem włącznie. Warto podkreślić, że w ramach tego projektu doskonalono krajowe rozwiązania: wspomniane detektory polianilinowe a także oryginalny przenośny termocykler *real-time* PCR, automatyczny zestaw izolacji kwasów nukleinowych, analizator elektroforetyczny (Politechnika Wrocławska) [30], analizator czynników chemicznych i biologicznych (WICHiR). Konsorcjanci z branży biologii molekularnej (A&A Biotechnology) opracowali zoptymalizowane odczynniki do wytworzonego instrumentarium, a ośrodek opracował schemat diagnostyki oraz zestawy sond i starterów. Osiągnięcia tego projektu doceniono nagrodami: Złotym Laurem Innowacyjności w konkursie MNiSW na najlepsze produkty innowacyjne oraz nagrodą Defender na XXII MSPO Kielce 2014 za wyróżniające rozwiązania techniczne. Dobre doświadczenia ze współpracy z WICHiR pozwoliły na obecną realizację prac nad detektorem immunologicznym. Celem prac, finansowanych przez resort ON i rozpoczętych w 2019 r., było wytworzenie biodetektora do detekcji przetrwalników *B. anthracis*, który umożliwiłaby



Ryc. 5. Mobilne Laboratorium Poboru Próbek i Identyfikacji Zagrożeń Biologicznych SFORA (Puławy, 2014 r.).

automatyczną identyfikację na współczesnym polu walki i działaniach operacyjnych różnych służb (policja, PSP, SOP, ABW i inne). Projektowany nanobiodetektor będzie działał na zasadzie testu immunoenzymatycznego podwójnego wiązania – test kanapkowy (*sandwich ELISA*), przy zastosowaniu nośnika-membrany, z przeciwciałami specyficznymi dla przetrwalników *B. anthracis*.

#### ■ Medycyna translacyjna – terapie genowe

W 2016 r. ogłoszono resortowy program „*Kościuszeko*” skierowany do polskich naukowców z zagranicy, którzy chcieliby wrócić do kraju i rozpocząć współpracę z instytucjami obronnego obszaru B+R. Nawiązanie współpracy ośrodka w Puławach z dr. Leszkiem Lisowskim z *Children's Medical Research Institute* (Sydney, Australia) było otwarciem nowych możliwości dla pracowni wirusologii. Innowacyjnym obszarem badawczym stało się wykorzystanie wektorów wirusowych – rekombinowanych wirusów związanych z adenowirusami (*recombinant adeno-associated virus rAAV*) – ukierunkowanych na komórki wątroby w terapii genetycznie uwarunkowanych chorób metabolicznych. Identyfikacja molekularnych mechanizmów wewnątrzkomórkowej blokady transdukcji hepatocytów, pozwoliłaby na skuteczniejsze dostarczenie transgenu terapeutycznego. W celu ich wyjaśnienia opracowano platformę tworzenia wektorów AAV, badano mechanizmy interakcji pomiędzy wątrobą a AAV oraz poszukiwano rekombinowanych wektorów zdolnych do transdukcji ludzkich hepatocytów z wysoką wydajnością. Współpraca z najlepszymi laboratoriami pozwoliła na transfer wiedzy, metodologii i doświadczeń. Wzajemne staże i praktyki oraz wymiana personelu naukowego umożliwiały szybką implementację technik rekombinacji genetycznej i ukierunkowanej ewolucji, prowadzącej do tworzenia zróżnicowanych bibliotek (*error prone PCR*, *primerless PCR*, *DNA shuffling*), testowania bibliotek, analizy sekwencji, techniki pracy z liniami komórkowymi lub indukowanymi komórkami macierzystymi (iPSC) jako modelami hepatocytów [31].



## ■ Czasy pandemii COVID-19

Pandemia koronawirusa SARS-CoV 2 stworzyła nowy kierunek działania, związany z diagnostyką w kierunku COVID-19. W obliczu informacji o nowej odmianie wirusa SARS, dzięki wymianie informacji w ramach sieci EVD LabNet oraz EVA (*European Virus Archive*), ODiZZB już w styczniu 2020 r. pozyskał w ramach współpracy stosowne reagenty i kontrole reakcji, a wraz z rozwojem sytuacji związanej z pandemią COVID-19 priorytetem działania ośrodka stało się zapewnienie diagnostyki na rzecz Sił Zbrojnych RP. Zgodnie z decyzją Ministra Obrony Narodowej od 2 marca 2020 r. ośrodek w Puławach przystąpił do prowadzenia analiz materiału biologicznego na obecność wirusa SARS-CoV-2. W krótkim czasie, dzięki resortowi ON, został wyposażony w automatyczny analizator Cobas 6800, który znacznie zwiększył przepustowość do 1400 testów na dobę. W lipcu 2020 r. ośrodek wizytował Minister Obrony Narodowej Mariusz Błaszczak. Podkreślając rolę wojskowych laboratoriów w działaniach przeciwepidemicznych, wskazał na wiodący w nich udział ODiZZB w Puławach. Natomiast od listopada 2021 r. ośrodek, wykorzystując dotychczasowe doświadczenie i kompetencje w sekwencjonowaniu i analizie, został zaangażowany w program ds. sekwencjonowania genomu koronawirusa SARS-CoV-2. Technika ta umożliwia monitorowanie zmienności materiału genetycznego (wykrywanie mutacji), wzbogacając międzynarodową bazę danych GISAID o informacje wariantach wirusa SARS-CoV-2 występujących na świecie. Ocena częstotliwości występowania nowych wariantów koronawirusa o większej zaraźliwości i zjadliwości oraz charakterystyka szczepów wirusa SARS-CoV-2 przyspieszy proces identyfikacji i oceny znaczenia nowych wariantów, co pozwala na precyzyjniejszą analizę aktualnej sytuacji epidemiologicznej i skuteczną walkę z pandemią.

## Podsumowanie

Ośrodek Diagnostyki i Zwalczania Zagrożeń Biologicznych WIHiE jest placówką naukową, która wnosi unikalny wkład w rozwój nauk medycznych, biologicznych i weterynaryjnych. Ośrodek, w zakresie tematyki i zadań jakie realizuje, nie ma odpowiednika wśród placówek resortowych lub cywilnych. Unikalność ODiZZB jest wynikiem synergii trzech ważnych funkcji: placówki naukowej, diagnostycznej oraz ekspercko-szkoleniowej w obszarze czynników biologicznych (bakterii, wirusów i toksyn) broni masowego rażenia. Uczestnictwo w międzynarodowych ćwiczeniach diagnostycznych podtrzymuje gotowość i biegłość w identyfikacji oraz różnicowaniu niebezpiecznych patogenów. Ośrodek posiada unikalną w skali kraju kolekcję szczepów czynników biologicznych (wirusy i bakterie II i III grupy ryzyka) co sprawia, że prowadzone w nim prace mają znaczenie nie tylko poznawcze, ale także aplikacyjne. Współczesne zagrożenia pandemią, bioterroryzmem i bronią biologiczną w świetle postępu naukowego, wskazują na konieczność podejmowania wszechstronnych działań dla sprostania tym wyzwaniom. Poza diagnostyką próbek klinicznych, związaną z medycznym laboratorium diagnostycznym, ośrodek musi być zdolny do identyfikacji czynników biologicznych *bmr* w próbkach środowiskowych. W tym celu należy rozwijać metody szybkiego sekwencjonowania,

uwzględniając sekwencjonowanie w warunkach polowych w ognisku epidemii. Realizację tych zadań umożliwi posiadanie unikalnej infrastruktury, wyszkolonego personelu oraz nowoczesnej aparatury badawczej.

## Piśmiennictwo

1. Rzelski J. Weterynaria wojskowa w Puławach 1949-1960. W: Millak K. red. 100 lat weterynarii w Puławach 1862-1962, Puławy, Wydawnictwo Instytutu Weterynarii, 1962; 239-245
2. Bartoszcze M, Michalski A. Od Wojskowego Ośrodka Naukowo-Badawczego Służby Weterynaryjnej do Ośrodka Diagnostyki i Zwalczania Zagrożeń Biologicznych Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii. Życie Weterynaryjne, 2008; 83 (1): 921-929
3. Chomiczewski K, Bartoszcze M, Michalski A. Budowanie nowoczesnego systemu obrony przed bronią biologiczną Sił Zbrojnych RP zgodnego z wymaganiami NATO. Lek Wojsk; 2019; 97 (1): 55-64
4. Bartoszcze M, Michalski A, Niemcewicz M. Pięciolecie działalności Ośrodka Diagnostyki Zwalczania Zagrożeń Biologicznych WIHiE w Puławach. Lek Wojsk, 2007; tom 83, nr 2, str. 103-107
5. Bielawska-Drózd A. Wykrywanie i identyfikacja *Bacillus anthracis* w próbkach środowiskowych. Praca doktorska. Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, Warszawa, 2006
6. Bartoszcze M., Bielawska-Drozd A. ATP Bioluminescence for the Detection and Identification of Biological Threats. In: Stopa PJ, Orahovec Z. ed. Technology for Combating WMD Terrorism. NATO Science Series - Springer, Dordrecht, 2004; 174:67-74
7. Mizak L. Unieczynnianie przetrwalników laseczki wąglika (*Bacillus anthracis*) przez promieniowanie gamma. Praca doktorska, Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, Warszawa, 2002
8. Mizak L. Sporobójcza aktywność nadtlenu wodoru i kwasu nadoctowego wobec przetrwalników *Bacillus anthracis*. Med Dosw Mikrobiol, 2005; 57 (4): 437-42
9. Szymajda U, Bartoszcze M. Zastosowanie metody multiplex PCR i PCR-RFLP do identyfikacji *Bacillus anthracis*. Med Dosw Mikrobiol, 2005; 57 (3): 277-85
10. Brumlik MJ, Szymajda U, Zakowska D, et al. Use of long-range repetitive element polymorphism-PCR to differentiate *Bacillus anthracis* strains. Appl Environ Microbiol, 2001; 67 (7): 3021-81
11. Niemcewicz M, Baroszcze M. Zastosowanie analizy makrorestriktoryjnej i reakcji PCR w odróżnianiu bezplazmidowych szczepów *Bacillus anthracis* od szczepów przejściowych (*Bacillus sp. Ba 813*). Med Wet, 2006; 62 (6): 658-662
12. Lasocki K. Ruchome laboratorium biologiczne w strukturach Polskich Sił Zbrojnych i NATO. W: Krauze M, Tomaszewski A. Śladkowski S et al. red. Terroryzm a broń masowego rażenia, diagnoza, poglądy, wnioski. Akademia Obrony Narodowej, Warszawa, Zeszyty Naukowe AON, 2003; (1A): 205-208
13. Zarzecka A, Bartoszcze M. Application of paramagnetic beads for purifying *Bacillus anthracis* protective antigen. J Vet Med B, 2006; 53 (8): 393-394
14. Żakowska D, Graniak G, Rutyna P, et al. Protective antigen domain 4 of *Bacillus anthracis* as a candidate for use as vaccine for anthrax. Ann Agric Environ Med. 2019; 26 (3): 392-395
15. Kocik J, Niemcewicz M, Winnicka I, et al. Diversity of

- influenza-like illness etiology in Polish Armed Forces in influenza epidemic season; *Acta Bioch. Polonica*, 2014; 61 (3): 489-494
16. Michalski A, Niemcewicz M, Bielawska-Drózd A, et al. Surveillance of Hantaviruses in Poland: A Study of Animal Reservoirs and Human Hantavirus Disease in Subcarpathia. *Vec Born Zoo Dis*. 2014, 14 (7): 514-522
17. Bartoszcze M, Mierzejewski J, Clement J. Gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym jako nowa zoonoza. *Życie Weterynaryjne*. 1989; 64: 11-12
18. Biuletyn z posiedzenia Komisji Zdrowia nr 34 Nr 901/VI kad. z 8.07.2008 r. Kancelaria Sejmu Biuro Komisji Sejmowych 2008 (dostęp: 6.03 .2022) [http://orka.sejm.gov.pl/Biuletyn.nsf/0/BA29ED98B54FCB90C125749D003D9F3D/\\$file/0090106.pdf](http://orka.sejm.gov.pl/Biuletyn.nsf/0/BA29ED98B54FCB90C125749D003D9F3D/$file/0090106.pdf)
19. Kapusta J, Kęsik-Brodecka M, Cecuda-Adamczewska V, et al. Uniwersalny nośnik antygeny pochodzenia bakteryjnego, szczepionka przeciwbakteryjna, sposób wytwarzania uniwersalnego nośnika, zastosowanie uniwersalnego nośnika zgł. UPRP 30.12.2010, Pat. Decyzja z dnia 26-06-2013
20. Michalski A, Mełgieś A, Bartoszcze M. Terroryzm z wykorzystaniem czynników biologicznych – historia, aktualne problemy i perspektywiczne zagrożenia. W: Skrobotowicz G, Maciąg K, red. Wybrane aspekty bezpieczeństwa narodowego. Lublin, Wydawnictwo Naukowe Tygiel, 2016; 72-88
21. Michalski A. Zastosowanie chemiluminescencji do immunoenzymatycznego oznaczania produktów PCR w diagnostyce molekularnej *Bacillus anthracis*. Wojskowy Instytut Higieny Epidemiologii – Uniwersytet Łódzki, Łódź, 2016; URI: 11089/16810
22. Michalski A, Bartoszcze M, Zabrocka L. et al. Zastosowanie cytometru przepływowego do diagnostyki molekularnej *Bacillus anthracis*. *Żywność Człowieka i Metabolizm*, 2007; XXXIV (3/4): 1417-1423
23. Cieślík P, Knap J, Kolodziej M, et al. Real-Time PCR Identification of Unique *Bacillus anthracis* Sequences. *Folia Biol (Praha)*, 2015; 61 (5): 178-83. PMID: 26667574
24. Granika G, Olender A, Naylor K. Differentiation of *Bacillus anthracis* and other *Bacillus cereus* group bacterial strains using multilocus sequence typing method. *Acta Univ Lodz, Folia Biol Oecol*, 2020; 16: 12-21
25. Bielawska-Drózd A., Mirski T., Bartoszcze M. et al. Development of real-time PCR assay for detection of *Vibrio cholera*. *Pol J Environ Stud*, 2012; 21 (2): 277-286
26. Bielawska-Drózd A, Cieślík P, Mirski T, et al. Prevalence of *Coxiella burnetii* in environmental samples collected from cattle farms in Eastern and Central Poland (2011-2012). *Vet Microbiol*, 2014 Dec 5; 174 (3-4): 600-606
27. Cieślík P, Knap JP, Piechowicz L, et al. Subspecies differentiation and genotyping of *Francisella tularensis* strains isolated from clinical and environmental samples. *Lett Appl Microbiol*, 2018; 67 (6): 550-556
28. Nakonieczna A, Rutyna P, Fedorowicz M, et al. Three novel bacteriophages, J5a, F16Ba, and z1a, specific for *Bacillus anthracis*, define a new clade of historical Wbeta phage relatives. *Viruses* 14 (2): 213
29. Zabrocka L., Langer K., Michalski A, et al. Microfluidic device for real-time monitoring of *Bacillus subtilis* bacterial spores during germination based on non-specific physicochemical interactions at the nanoscale level. *Lab Chip*, 2015; 15 (1): 274-282
30. Walczak R, Laboratoria chipowe z detekcją optyczną: konstrukcja, technologia i przykłady wykorzystania. Wrocław, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 2014; 175-201
31. Westhaus A, Cabanes-Creus M, Rybicki A, et al. High-Throughput *In Vitro*, *Ex Vivo*, and *In Vivo* Screen of Adeno-Associated Virus Vectors Based on Physical and Functional Transduction. *Hum Gene Ther*, 2020 May; 31 (9-10): 575-589