

VIRUS VARIOLE KAO BIOLOŠKO ORUŽJE

SMALLPOX VIRUS AS A BIOLOGICAL WEAPON

GORDANA MLINARIĆ-GALINOVIĆ, BRANKO TURKOVIĆ,
ZVONIMIR BRUDNJAK, IRA GJENERO-MARGAN*

Deskriptori: Virus variole; Biološki rat; Bioterorizam; Variola – prevencija

Sažetak. S obzirom na opasnost od upotrebe virusa velikih boginja (variole) kao biološkog oružja poraslo je zanimanje medicinske i druge javnosti za ovog uzročnika koji je eradican iz prirode koncem 1970-tih godina. U radu su ukratko iznesena sadašnja saznanja o biološkim svojstvima virusa variole, epidemiologiji, patogenezi, kliničkoj slici, dijagnostici, liječenju i profilaksi bolesti koju taj virus uzrokuje. Na dva primjera iznenadne pojave epidemije velikih boginja u Njemačkoj godine 1970. i u bivšoj Jugoslaviji godine 1972. upozoreno je na potencijal virusa variole kao biološkog oružja u bioterorizmu i biološkom ratu. Naime, ovaj se virus vrlo lako širi aerosolom i može dovesti do eksplozivnih epidemija. Populacija mlađa od 25 godina posve je neimuna (nije cijepljena), a stariji vjerojatno imaju niski ostatni specifični imunitet na uzročnika. Epidemija velikih boginja može se spriječiti jedino cijepljenjem i izolacijom bolesnika. Brza dijagnostika variole i promptna vakcinacija svih ljudi u kontaktu od najvećeg su značenja za zaustavljanje epidemije.

Descriptors: Variola virus; Biological warfare; Bioterrorism; Smallpox – prevention and control

Summary. In view of the threat of use of the variola virus as a biological weapon, the interest of medical and other public in this causative agent that was eradicated in the wild at the end of the 1970s has increased. The paper gives an outline of the current knowledge on biological properties of the variola virus, and on the epidemiology, pathogenesis, clinical picture and prophylaxis of the disease caused by this virus. Descriptions of two sudden smallpox epidemics (Germany in 1970 and former Yugoslavia in 1972) could illustrate the potential of the smallpox virus as a biological weapon in bioterrorism and biological warfare. In fact, this virus can spread very readily through aerosol, which may lead to explosive epidemics. Not having been immunised, our population aged less than 25 years totally lacks the immunity. Older individuals are likely to have a low residual specific immunity to the agent. The only way to prevent a smallpox epidemic is by vaccination and patient isolation. A rapid smallpox diagnostics and prompt vaccination of all contacts is of utmost importance in stopping the outbreak.

Liječ Vjesn 2003;125:16–23

U protekloj godini za virus velikih boginja (variole) poraslo je zanimanje medicinske i druge javnosti. Naime, u nekim laboratorijima u svijetu, još i nakon 20-ak godina od eradikacije velikih boginja u prirodi, čuvaju se ovi virusi i zloupotrebom bi se mogli iskoristiti kao sredstvo za bioterorizam. To nas je ponukalo da ukratko iznesemo sadašnja saznanja o biološkim svojstvima virusa variole, patogenezi, kliničkoj slici, dijagnostici te profilaksi i epidemiologiji bolesti koju uzrokuje.

Virus variole uzrokuje velike boginje, tešku, generaliziranu bolest ljudi, poznatu oko 2000 godina. U to su doba u Indiji bile endemna bolest, a oko 700. g. p. K. proširile su se na Kinu i Japan te Europu i sjevernu Afriku. U Ameriku stižu u 16. stoljeću i uzrokuju smrt oko 3,5 milijuna Indijanaca, dok su u Australiju unesene u 18. stoljeću.^{1,2} Prva efikasna mjera prevencije v. boginja datira iz 10. stoljeća, tzv. variolizacija, tj. intranazalno upuhavanje praha sasušanih krasta skinutih s bolesnika ili inokulacija tekućine uzete iz pustula ili napravljene od krasta. Ako je virus u inokuliranom materijalu bio živ, javila bi se bolest, ali bi smrtnost bila niža (1–2%) u odnosu na smrtnost u onih koji nisu bili variolizirani (20–30%). Međutim, variolizirane osobe bile su izvor infekcije v. variole, kao i prirodno oboljele osobe.² Jenner je 1796. godine u Engleskoj upotrijebio virus kravljih boginja za prevenciju variole te je tako vakcinacija u 19. stoljeću bila u širokoj primjeni u cijelom svijetu. Ne zna se točno kada i zašto je nastao novi tip virusa – vakcinski virus, koji u prirodi ne postoji. Vjeruje se da je ovaj virus hibrid nastao miješanjem v. variole, v. kravljih boginja i v. konjskih boginja u ranom periodu Jennerove vakcinacije.

Od 1968. do 1971. godine soj Lister iz V. Britanije bio je najčešće upotrebljavani soj v. vakcinije u svijetu.^{3,4} Imunološki zavod u Zagrebu upotrebljavao je u proizvodnji cjepiva protiv velikih boginja i soj Berne-Zagreb.^{5–7}

Građa i biološka svojstva virusa

V. variole, uzročnik bolesti samo u čovjeka, pripada porodici *Poxviridae* (dosada najveći poznati virusi u kralježnjaka), potporodici *Chordopoxvirinae*, rodu *Orthopoxvirus*, zajedno s v. vakcinije, v. boginja deva, v. kravljih boginja, v. ektromele, v. majmunskih boginja i drugima (ukupno 11 virusa). U drugim rodovima (ukupno 8 rodova) potporodice *Chordopoxvirinae* nalaze se još neki humanopatogeni virusi (tablica 1).^{1,8}

V. variole je kompleksno građen, veličine 270×350 nm, oblika poput cigle. Virusni genom sastoji se od linearne dvolančane DNA, molekularne težine 130–200×10⁶ koja nosi oko 300 gena.^{1,8–10} To je sastavni dio bikonkavne nukleokapside, tj. središnjeg dijela jezgre virusa, kojemu se postranično nalaze lateralna tijela nepoznate funkcije. Oko jezgre virusa nalazi

* Zavod za medicinsku mikrobiologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu (prof. dr. sc. Gordana Mlinarić-Galinović, dr. med.; prof. dr. sc. Zvonimir Brudnjak, dr. vet., u mirovini), Hrvatski zavod za javno zdravstvo (dr. sc. Branko Turković, dr. vet.; Ira Gjenero-Margan, dr. med.)

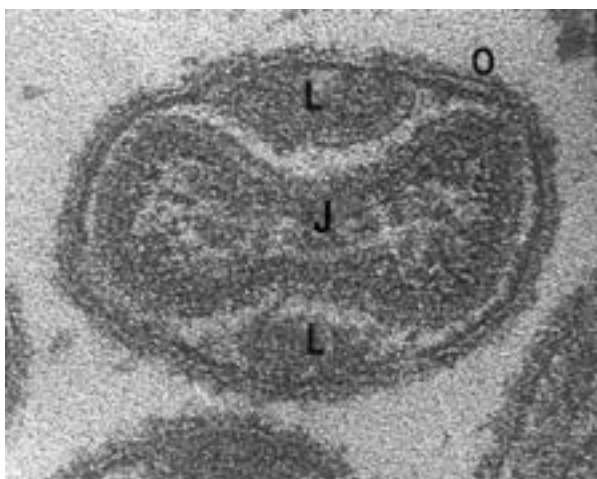
Adresa za dopisivanje: Prof. dr. G. Mlinarić-Galinović, Zavod za mikrobiologiju, Škola narodnog zdravlja »A. Štampar«, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rockefellerova 4, 10000 Zagreb

Primljeno 23. travnja 2002., prihvaćeno 21. siječnja 2003.

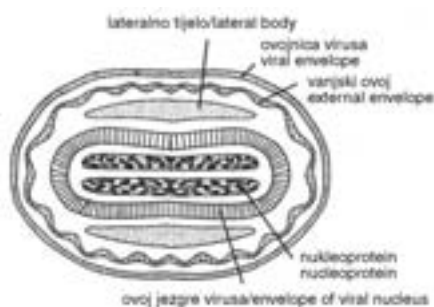
Tablica – Table 1. Poksvirusi patogeni za ljude / Human pathogenic poxviruses

Porodica Family	Podporodica Subfamily	Rod Genus	Tip/vrsta Type/species	Bolest Disease
Poxviridae	Chordopox virinae	Orthopoxvirus	V. vakcinije/Vaccinia v.	vaccina, lokalne kožne lezije vaccine, localized skin lesions
			V. variole/Variola v.	velike boginje, generaliz. inf./smallpox, generalized infection
			V. kravljih boginja	lokalne kožne lezije (pustula), Z
			Cowpox v.	localized skin lesions (pustular), Z
			V. majmunskih boginja Monkeypox v.	poput velikih boginja, Z, u Africi smallpox-like disease, Z, in Africa
		Parapox virus	Orf virus	lokalne kožne lezije (nodus), Z localized skin lesions (nodular), Z
			V. pseudokravlji boginja Pseudocowpox v.	lokalne kožne lezije (nodus), Z localized skin lesions (nodular), Z
		Yatapox virus	V. govedeg papularnog stomatitisa Bovine papular stomatitis v.	lokalne kožne lezije (nodus), Z localized skin lesions (nodular), Z
			Tanapoksvirus	lokalne kožne lezije (nodus), Z localized skin lesions (nodular), Z
			Yabapoksvirus Yabapoksvirus	lokalne kožne lezije (nodus), Z localized skin lesions (nodular), Z
Mollusci poxvirus	Molluscum contagiosum virus	mnogobrojne lokalne kožne lezije (nodus) many localized skin lesions (nodular)		

Z – zoonoza/zoonosis



Slika 1. Elektronska mikrografija virusa vakcinije, S – središnji dio jezgre virusa, L – lateralna tijela, O – lipoproteinska ovojnica virusa
Figure 1. Electron microgram of the vaccinia virus: S – the central portion of virus core, L – lateral bodies, O – lipoprotein viral envelope



Slika 2. Shematski prikaz građe virusa vakcinije
Figure 2. Scheme of the vaccinia virus structure

se dvoslojna ovojnica okružena proteinom, a potom dvostruka lipoproteinska ovojnica (slika 1. i 2). Virus ima stotinjak strukturnih proteina-antigena na koje se stvaraju specifična protutijela (neutralizacijska – Nt, ona koja vežu komplement – KF, ona koja inhibiraju hem – HI).

Umnožavanje virusa zbiva se u citoplazmi stanice domaćina te se već 2–6 sati nakon infekcije stvaraju rani proteini, npr. DNA-polimeraza i timidin kinaza i nakupljaju na pojedinim mjestima u citoplazmi stanice tvoreći tzv. virusna inkluzijska tjelešca. Virusne čestice izlaze iz stanice pupanjem, no većina virusa ostaje unutarstanično. Na umnožavanje virusa utječu dva kemoterapeutika: rifampin – koji blokira stvaranje i kompletiranje virusne ovojnice i metisazon – koji interferira sa stvaranjem kasnih virusnih proteina i kompletiranjem virusne čestice.^{3,9}

Osjetljivost na kemijsko-fizikalne čimbenike. Poksvirusi su relativno otporni virusi jer u suhoj sredini ostaju infektivni mnogo mjeseci. Zato klinički materijal ne treba transportirati na 4°C. Virus propada na 60°C/10 minuta. Otporan je na eter, a osjetljiv na pH 3, alkohol, aceton, UV zrake, formaldehid i Na-hipoklorit.³

V. variole čuva se samo u dva laboratorija u svijetu. To su laboratoriji s visokim stupnjem osiguranja: Centar za kontrolu bolesti (CDC – Center for Disease Control) u Atlanti, SAD i Ruski državni centar za istraživanje u virologiji i biotehnologiji u Koltsovu, Novosibirska regija. Rezolucijom SZO od 1996. godine zatraženo je potpuno uništenje svih sojeva ovog virusa do lipnja 1999. godine. Međutim, u svibnju 1999. godine je tijelo odgodilo uništenje sojeva do 2002. godine. Za sada se zna da bar još dva laboratorija u bivšem Sovjetskom Savezu imaju sojeve v. variole, od kojih jedan laboratorij ima kapacitet za proizvodnju goleme količine virusa (izraženo u tonama) svakog mjeseca.^{11–13}

Epidemiologija

Sve dobne skupine su osjetljive za v. variole, ali je mortalitet veći u najmlađe djece i starije dobne skupine (stariji od 60 godina). Epidemije velikih boginja javljale su se zimi kada je hladno i suho, ali se mogu širiti u svakoj klimatskoj zoni i po cijelom svijetu. Zadnji slučajevi endemskih velikih boginja (variola minor-oblik) bili su u Somaliji 1977. godine (3229 oboljelih), a imali su mortalitet od 0,4%. Zadnji preživjeli slučaj variola major-oblika bio je u Bangladešu 1975. godine (3-godišnja djevojčica).³ SZO je masovnim cijepljenjem liofiliziranim pripravkom uspio iskorijeniti variolu 1977. godine te u svibnju 1980. godine službeno proglasilo velike boginje eradiciranim. Međutim potencijal v. variole kao biološkog agensa najbolje ilustriraju dva primjera izbijanja bolesti 1970-ih godina

u Europi. Prvi se dogodio u Meschedeu, Njemačka, 1970. godine, a virus se širio aerosolom te bio infektivan u vrlo niskoj dozi.¹⁴ Epidemija je izbila nakon što je u bolnici u Meschedeu hospitaliziran bolesnik pod sumnjom da boluje od trbušnog tifusa, a koji se nedavno vratio iz Pakistana. Četvrtog dana boravka u bolnici kod bolesnika je izbio osip, a šestog dana je elektronskom mikroskopijom ustanovljen virus variole. Ukupno je oboljelo 20 osoba, a četvero je umrlo.¹⁴ Drugi se dogodio u bivšoj Jugoslaviji 1972. godine i bio je najveća epidemija velikih boginja u Europi poslije II. svjetskog rata. Zarazu je na Kosovo unio jedan cijepljeni hadžija (hodočasnik) nakon povratka iz Meke.¹⁵ Imao je netipični, modificirani oblik bolesti. Unatoč visokoj procijepljenosti pučanstva došlo je do širenja bolesti na drugih 11 osoba, a tih 11 je prosječno zarazilo po 13 novih osoba, tj. ukupno je bilo 175 zaraženih, a umrlo ih je 35, tj. 20%.^{12,15-17} Ni jedan slučaj nije bio u Hrvatskoj, već su svi bili u Srbiji i jedan u Crnoj Gori.¹⁵ Od 175 oboljelih 105 (60%) bilo je vakcinirano, a 66 nevakcinirano i u 4 slučaja vakcinalni status nije bio poznat. Kod oboljelih koji su prethodno bili vakcinirani fatalni je ishod bio u 8% slučajeva, a kod nevakciniranih 35%.^{15,16} U bivšoj Jugoslaviji broj procijepljenih prema broju oboljelih bio je otprilike 5 puta veći negoli i u jednoj prijašnjoj epidemiji variole, tj. potrošeno je 18 milijuna doza vakcine (102 857 doza po svakom slučaju bolesti) jer se usprkos uputama epidemiologa pribjeglo masovnom cijepljenju.^{15,18} U Europi je i kasnije, tj. 1978. godine došlo do jedne laboratorijske infekcije ovim virusom, na Medicinskom fakultetu u Birminghamu, V. Britanija, koja je završila fatalno.^{2,9,18}

Meltzer i sur.¹⁹ konstruirali su 2001. godine matematički model da opišu širenje velikih boginja u slučaju da virus bude namjerno ubačen među ljude. Pretpostavili su da inicijalno bude inficirano 100 osoba i da svaka od njih dalje prenese virus na tri druge osobe. Karantena bi zaustavila daljnje širenje bolesti, ali bi bila potrebna minimalna dnevna stopa izolacije od 50% osoba koje pokazuju znakove bolesti. Cijepljenje bi moglo zaustaviti epidemiju za 365 dana samo ako bi prijenos bolesti bio reduciran na manje od 0,85 novoinficiranih osoba od strane svakog bolesnika. Kombinacija karantene i vakcinacije mogla bi zaustaviti epidemiju za 365 dana ako bi dnevna stopa izolacije bila 25% bolesnika, a cijepljenje uspješno reducirati prijenos za više od 33%. U ovakvu scenariju očekuje se oko 4200 oboljelih osoba, a bilo bi potrebno godinu dana da se epidemija zaustavi. Kako je već otprije poznato da je za

zaustavljanje epidemije potrebno oko 2000 doza vakcine po jednom slučaju bolesti, za zaustavljanje ovakve hipotetske epidemije bilo bi potrebno oko 40 milijuna doza vakcine.

Patogeneza

Virus ulazi u organizam inhalacijom sitnih čestica sekreta (aerosol) kontaminiranih virusom iz lezija u orofarinksu bolesnika koji je najčešće u prvom tjednu manifestacije osipa (najveća količina virusa u sekretu). Naime, tada je mnogo veća količina virusa u sekretu negoli u krastama kasnije u tijeku bolesti. Ciljne stanice za virus su epitelne stanice sluznice gornjeg i donjeg dijela dišnog sustava. Potom se, već trećeg dana infekcije, virus nađe u makrofazima, a oni ga nose limfom u najbliže limfne čvorove. U krv virus ulazi oko 4. dana bolesti (primarna viremija), nakon što se kratko vrijeme umnožavao u limfnim čvorovima.³ Primarno umnožavanje virusa u orofarinksu i ostalom dijelu dišnog sustava je bez simptoma i u tom razdoblju (inkubacija) bolesnik nije zarazan. Sekundarna viremija nosi virus u stanice malih krvnih žila kože i nastaje njihova dilatacija. Otuda najznačajniji patološki znak bolesti – osip. Inficirani makrofazi migriraju iz tih krvnih žila u epidermis, tj. u bazalni sloj stanica. Javljuju se nekroza i edem te razdvajanje dermisa. Kasnije migriraju i polimorfonuklearne stanice u lumen nastale vezikule te nastaje pustula. Formira se krasta koja se sastoji od degeneriranih epitelnih stanica, leukocita i detritusa. Cijeljenje lezije ožiljkom izraženo je osobito na području gdje ima puno žlijezda lojnica te dolazi do njihove destrukcije i skupljanja granuliranog tkiva. Lezije se mogu naći i na mukoznim membranama, tj. u ustima, jeziku, grlu, dušniku i jednjaku. Također su moguće lezije (male hemoragije) u srcu, jetri te hiperplazija i degenerativne promjene endotelnih stanica posvuda u tijelu. Kod hemoragičnog oblika bolesti krvarenja se javljaju u perikardu, pleuri, peritoneumu, plućima, bubregu, jetri, mokraćnom mjehuru, maternici, pa čak i u koštanoj srži. U inficiranim stanicama nalaze se inkluzijska tjelešca, tzv. Guarnierijeve inkluzije smještene u citoplazmi.³

Prvi imuni odgovor na infekciju v. variole aktivira citotoksične T-limfocite koji ubijaju virus prije nego stvori nove virione, tj. djeluju na virusni antigen u staničnoj membrani. Titar humoralnih Nt protutijela raste kako bolest napreduje.

Ishod bolesti je ili smrt ili oporavak, ali katkad s posljedicama (ožiljci po koži osobito lica, rijetko sljepoča). Virus ne



Slika 3. Karakterističan izgled i raspored kožnih lezija kod variole major-oblika bolesti
Figure 3. Typical appearance and distribution of skin lesions in major forms of smallpox

ostaje u tijelu nakon preboljele bolesti, ali ostaje trajni imunitet za homologni virus. Nešto kraći imunitet (5 godina) postiže se vakcinacijom (heterologni virus).

Klinička slika

Infekcije v. variole javljaju se u dva osnovna klinička oblika: klasične velike boginje (variola major) i alastrim (variola minor) – endemska bolest u Africi i J. Americi. Kod variola minor-oblika osip je jednako intenzivan, ali je blaža toksemija, lezije su manje i zacjeljuju brže te je smrtnost kod necijepljenih oko 1% u odnosu na one s variola major-oblikom (15–45%).³

Inkubacija za oba oblika bolesti je 10–14 dana, obično 12 dana. Početak je nagao s groznicom, općom slabosti, glavoboljom i bolima u leđima. Inicijalna toksemična faza traje 4–5 dana i u bljedoputih osoba je katkad praćena eritemom. Karakterističan osip javlja se 3–4. dana bolesti, i to prvo na sluznici usta i grla te koži lica i ruku. Sljedeći dan javlja se i na trupu (najmanje lezija na truhu) i donjim udovima (slika 3). Za razliku od vodenih kozica, sve lezije na bilo kojem dijelu tijela u istoj su fazi razvoja, zahvaćaju dublje u kožu i mnogo su gušće raspoređene na koži lica i udova.¹² Lezije prolaze sljedeće faze: makula, papula, vezikula, pustula i krasta (14–16. dan bolesti). Bolesnik je febrilan tijekom cijelog perioda razvoja lezija. Za 3 tjedna većina krasta otpadne (zadnje otpadaju s dlanova i tabana). Smrt obično nastupa za vrijeme drugog tjedna bolesti.¹²

U 5–10% bolesnika razvija se progredirajući i maligni tok bolesti koji završava fatalno za 5–7 dana. Takvi bolesnici imaju gusto smještene konfluirajuće kožne lezije te krvarenja u koži i probavnom sustavu. Bolest je teško prepoznati, a bolesnici su izrazito zarazni.¹²

Hemoragični oblik bolesti. Javljaju se petehije na koži i krvarenja na konjunktivi i drugim mukoznim membranama, vrlo jaka toksemija i rana smrt, često prije nego izbije osip. Javljao se češće kod trudnica.

Plosnati oblik bolesti. Javlja se izrazito jaka toksemija, a kožne se lezije sporo manifestiraju, i to kao »plosnat« i mekan osip. Većina slučajeva završava fatalno. Misli se da je oblik bolesti posljedica nedostatnog staničnog imuniteta.

Modificirani oblik bolesti. Javlja se u osoba koje su vakcinirane puno godina ranije. Kožne lezije evoluiraju brže, a zabilježeni su samo rijetki fatalni slučajevi ovog tipa bolesti.

Laboratorijska dijagnostika

Diferencijalnodijagnostički hemoragični tip bolesti može se zamijeniti s meningokoknom sepsom ili akutnom leukemijom; modificirani tip bolesti ili variola minor-oblik može se zamijeniti s vodenim kozicama tijekom 2–3. tjedna bolesti (evolucija – na mahove i distribucija – trup, nikad dlanovi i tabani – osipa je ipak različita!).¹²

Klinički materijal. Za virološku dijagnostiku rabe se kraste i sadržaj vezikula te autopsijski uzorci dijelova kože, jetre, slezene, pluća ili bubrega.

Uzorci se šalju u virološki laboratorij u suhom stanju, bez transportnih podloga ili glicerola.¹⁰ Svi materijali sumnjivi na variolu trebaju se staviti u posude koje se mogu dobro zatvoriti, potom ih oblijepiti vodonepropusnom trakom te potom položiti u vodonepropusne kontejnere u koje se stavi adsorbirajući materijal (npr. papirni ručnik). Sve se to uloži u kartonsku kutiju, na kojoj su napisani podaci.

Virusni sojevi čuvaju se u ledenicama (–20 do –70°C) ili tekućem dušiku.

Virološka (etiološka) dijagnostika iz navedenih kliničkih materijala trebala bi se raditi u laboratoriju 3. stupnja biološke zaštite (BSL 3 – engl. biosafety laboratory).

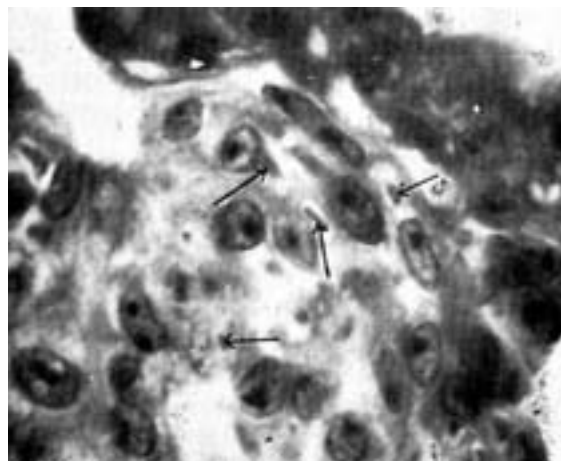
Izravna virološka dijagnostika

a) Detekcija virusa

1. Elektronska mikroskopija negativno obojenih preparata. Ovo je najbrža i najbolja metoda dijagnostike koja izravno iz kliničkog materijala pokazuje o kojem se rodu virusa radi.
2. Mikroskopija u svjetlosnom mikroskopu. Histološkim bojenjem (hematoksilin-eozin) rezova ili kliničkih uzoraka može se prikazati intracitoplazmatsko eozinofilno Guarnierijevo inkluzijsko tjelešće (slika 4).
3. Imunofluorescentna mikroskopija. Upotrebljava se izravna (DFA – engl. direct fluorescent antibodies) i neizravna imunofluorescencija (IFA – engl. indirect fluorescent antibodies). Virusi se identificiraju do razine roda. Materijal treba čuvati smrznut ili treba biti dostavljen u laboratorij najkasnije tjedan dana nakon uzimanja, inače rezultati pretrage mogu biti lažno pozitivni.
4. Molekularne metode. Detekcija virusa može se napraviti izravno iz kliničkog materijala metodama dot-blot hibridizacije, lančane reakcije polimeraze (PCR, engl. polymerase chain reaction) te elektroforetskom analizom virusnih DNA fragmenata dobivenih razgradnjom s restrikcijskim endonukleazama pokazati pripadnost rodu i vrsti virusa.¹⁰ Ove tehnike mogu se upotrijebiti i za tipizaciju izoliranog virusa.

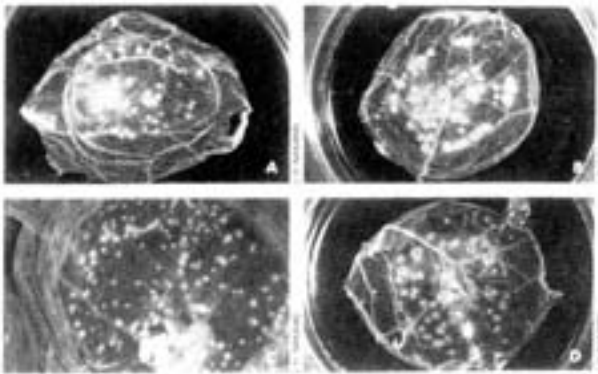
b) Izolacija virusa

1. Izolacija na korioalantoisnoj membrani (CAM). Nakon inokulacije na CAM 12 dana starog oplođenog kokošjeg jajeta i inkubacije na 35°C/72 sata na prozirnoj se membrani javljaju bijeli jednako veliki (1 mm u promjeru) poksovi te se svojim izgledom razlikuju od poksova drugih ortopoksvirusa (slika 5).¹⁰
2. Uzgoj virusa u staničnim kulturama. Virus se može izolirati na stanicama humanog podrijetla (humane embrionalne stanice pluća) i stanicama ostalih primata (primarne stanice rezus-majmuna, Vero-stanice bubrega afričkog majmuna), ali i stanicama drugih sisavaca (goveda, svinje). Karakterističan citopatični učinak (CPE, engl. cytopathic effect) nastaje za 3 dana. V.



Slika 4. Guarnierijevo inkluzijsko tjelešće virusa variole, bojeno hematoksilin-eozinom

Figure 4. The Guarnieri inclusion bodies of the variola virus, stained with hematoxylin-eosin



Slika 5. Poksovi ortopoksvirusa na CAM, A – v. variole, B – v. vakcinije, C – v. majmunskih boginja, D – v. kravljih boginja
Figure 5. Orthopox virus poxes on CAM, A – variola v., B – vaccinia v., C – monkeypox v., D – cowpox v.

variole radi CPE u obliku multinuklearnih stanica s hiperplastičnim nakupinama veličine 1–3 mm u promjeru. V. majmunskih boginja radi veće nakupine degeneriranih stanica (2–6 mm u promjeru), a nikada ne radi CPE na embrionalnim stanicama svinjskog bubrega. Nakon uzgoja u staničnoj kulturi, radi se supkultivacija na CAM jer je izgled poksova karakterističan za svaki pojedini ortopoksvirus.¹⁰

Neizravna virološka dijagnostika

Ovaj se način dijagnostike upotrebljava kada nije dostupan materijal za izravnu dijagnostiku ili kada se rade seroepidemiološka ispitivanja. Serološkim testovima mogu se dokazati specifična protutijela u testu neutralizacije (NT), reakciji vezanja komplementa (RVK), testu inhibicije hemaglutinacije (IH), protusmjernoj imunoelektroforezi (PIE), imunoenzimnom testu (EIA, engl. enzyme immuno assay), IFA i radioimunotestu (RIA, engl. radioimmuno assay). Najčešće se upotrebljavaju testovi: HI, RIA, EIA i IFA, a uzimaju se dva uzorka seruma u razmaku od 2 do 3 tjedna.^{1,10}

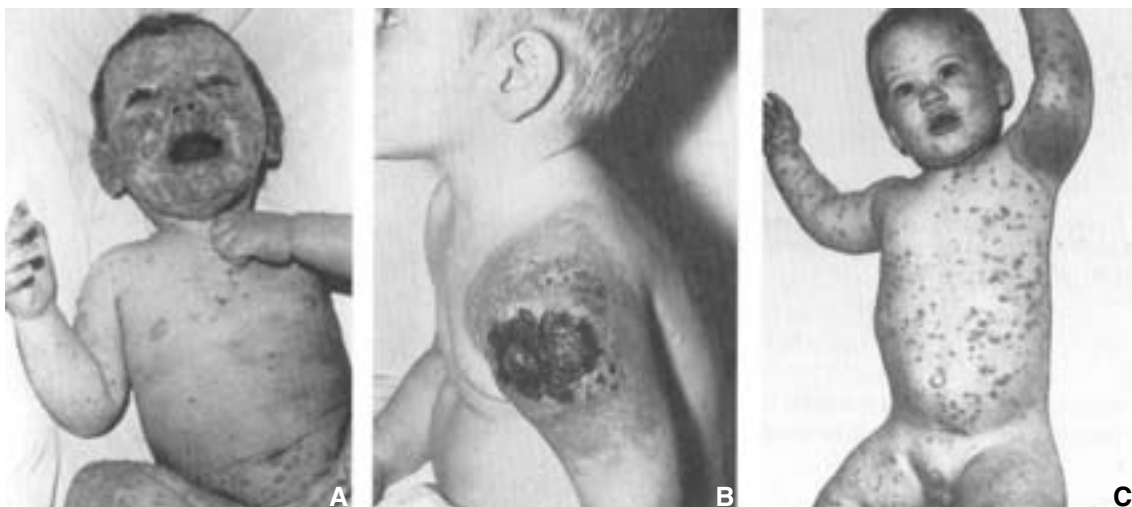
Liječenje i profilaksa

Jedini kemoterapeutik koji je pokazao djelotvornost za viruse roda *Orthopoxvirus* je Marboran, tj. metisazon (N-methylsatin beta-thiosemicarbazon). Rabio se profilaktički, a rijetko u liječenju variole i ne preporučuje se za liječenje vakcinalnih komplikacija. Za te slučajeve koristan je bio vakcinski imuni gama-globulin, osim za postvakcinalni encefalitis. Također, nije poznato je li vakcinski imuni gama-globulin djelotvoran kao prevencija bolesti nakon laboratorijske infekcije virusom vakcinije. V. vakcinije se danas rabi kao tzv. vektor za proizvodnju rekombinantnih cjepiva, pa se osobe koje rade na takvim poslovima cijepuju ovim virusom.¹²

Jedina odobrena komercijalna vakcina u SAD-u je Wyeth Dryvax, a proizvodila se do 1983. godine. Ovo cjepivo je liofilizirani preparat živog virusa vakcinije (VACV), a napravljeno je od soja iz teleće limfe – New York City calf (NYC CL).^{3,20} Vakcina se proizvodi tako da se telad inficira skarificiranjem, a kasnije nastale lezije na koži se ostružu. Liofilizirani vakcinalni pripravak se rekonstituira u otopini koja sadržava 50% glicerina, 0,25% fenola i 0,005% briljantnog zelenila. No, kako je prilikom proizvodnje gore navedene vakcine moguća kontaminacija proizvoda, ali i alergijske reakcije na životinjske proteine u proizvodu, pokušalo se cjepivo proizvesti na staničnoj kulturi npr. humanih diploidnih stanica – MRC-5.^{3,21} Manje je poželjna proizvodnja virusa na kontinuiranoj staničnoj kulturi npr. Vero zbog njezina eventualnog tumorogenog potencijala.^{3,22} Cijepljenje se danas primjenjuje samo za one koji su u laboratoriju izloženi ortopoksvirusima. Vakcinacija šireg kruga ljudi izbjegava se iz dva razloga: 1. rizik od mogućih komplikacija i 2. ograničena je rezerva cjepiva (6–7 milijuna doza), a trebale bi bar 3 godine da se proizvede velika količina cjepiva.¹² Vakcina se primjenjuje prije ekspozicije ili unutar 2–3 dana od izlaganja i daje potpunu zaštitu od bolesti. Vakcinacija 4–5 dana nakon ekspozicije može prevenirati smrtni ishod.¹² Komplikacije vakcinacije:

1. *Generalizirana vakcinija*. Uglavnom benigna bolest karakterizirana pojavom multiplih lezija po tijelu vakcinirane osobe (slika 6-C).

2. *Progresivna vakcinija* (*vaccinia gangrenosa*, *vaccinia necrosum*). Karakterizirana je nedostatkom cijeljenja lokalne inokulacijske lezije te njezinim progresivnim povećanjem.



Slika 6. A – Vakcinalni egzem u nevakciniranog djeteta nakon kontakta s osobom u tijeku vakcinacije; B – Progresivna vakcinija, s fatalnim završetkom, u djeteta s nedostatnim staničnim imunitetom; C – Generalizirana vakcinija, 10 dana nakon primarne vakcinacije, benigni tijek, bez stvaranja ožiljaka

Figure 6. A – Vaccinal eczema in an unvaccinated child after contact with a person during immunisation; B – Progressive vaccinia with fatal outcome in a child with insufficient cell immunity; C – Generalized vaccinia, 10 days after primary vaccination, benign course, without scarring

Tablica 2. *Potencijalni agensi za biološki terorizam (kategorija A)*
 Table 2. *Potential biological terrorism agents (category A)*

Uzročnik Agent	Bolest Disease	Javnozdravstveni učinak Public health impact		Mogućnost širenja Dissemination potential		Javno videnje bolesti Public perception of disease	Posebna priprema (vakcina, dijagnost. potrebe) Special preparation (vaccine, diagnostic needs)
		Razvoj bolesti Disease development	Smrt Death	Mogućnost proizvodnje i širenja na širu populaciju Potential for production and dissemination in large population	Prijenos s osobe na osobu Person to person transmissibility		
<i>Variola maior</i>	velike boginje smallpox	+	++	+	+++	+++	+++
<i>B. anthracis</i>	antraks/anthrax	++	+++	+++	0	+++	+++
<i>Y. pestis</i>	kuga/plague	++	+++	++	++	++	+++
<i>C. botulinum</i> (toksini/toxins)	botulizam botulism	++	+++	++	0	++	+++
<i>F. tularensis</i>	tularemija tularemia	++	++	++	0	++	+++
Filovirusi i arenavirusi Filoviruses and Arenaviruses (<i>Ebola virus</i> , <i>Marburg virus</i> , <i>Lassa virus</i> , <i>Machupo virus</i>)	virusne hemoragične groznice viral hemorrhagic fevers	++	+++	+	+	+++	++

Tablica 3. *Potencijalni agensi za biološki terorizam (kategorija B)*
 Table 3. *Potential biological terrorism agents (category B)*

Uzročnik Agent	Bolest Disease	Javnozdravstveni učinak Public health impact		Mogućnost širenja Dissemination potential		Javno videnje bolesti Public perception of disease	Posebna priprema (vakcina, dijagnost. potrebe) Special preparation (vaccine, diagnostic needs)
		Razvoj bolesti Disease development	Smrt Death	Mogućnost proizvodnje i širenja na širu populaciju Potential for production and dissemination in large population	Prijenos s osobe na osobu Person to person transmissibility		
Alfavirusi (<i>v. venezuelskog konjskog encefalitisa</i> , <i>v. istočnog konjskog encefalitisa</i> , <i>v. zapadnog konjskog encefalitisa</i>) Alphaviruses (<i>Venezuelan equine encephalitis v.</i> , <i>eastern equine encephalitis v.</i> , <i>western equine encephalitis v.</i>)	virusni encefalitisi viral encephalitis	+++	+	+	+	++	++
<i>C. burnetii</i>	Q groznica Q fever	+	+	++	0	+	++
<i>Brucella spp.</i>	bruceloza brucellosis	+	+	++	0	+	++
<i>Burkholderia mallei</i>	sakagija glanders	++	+++	++	0	0	++
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	melioidoza melioidosis	+	+	++	0	0	++
<i>C. psittaci</i>	psitakoza psittacosis	+	+	++	0	0	+
<i>Salmonella spp.</i>	trbušni tifus typhus	+	+	++	0	0	+
<i>V. cholerae</i>	kolera cholera	+	+	++	+/-	+++	+
<i>Shigella spp.</i>	šigeloza shigellosis	+	+	++	+	+	+

Javlja se u osoba koje imaju nedostatan stanični imunitet i u onih koje su pod immunosupresivnom terapijom.⁸ Kod ovakvih osoba nužna je primjena vakcinijskog imunoga globulina (slika 6-B).

3. *Vakcinalni egzem (eczema vaccinatum)*. Javlja se kod osoba koje imaju egzem, i to ili nakon vakcinacije ili nakon kontakta s vakciniranom osobom. To je lokalna ili sustavna bolest, a katkad može završiti fatalno (slika 6-A).

4. *Erythema multiforme*. Javlja se 1–2 tjedna nakon vakcinacije. Obično se manifestira kao makularni, intenzivni eritematozni osip, a vjeruje se da je odraz alergijske reakcije na komponente vakcine.

5. *Postvakcinalni encefalitis*. To je teška i nepredvidiva bolest koja se javlja uglavnom u primarno vakciniranih osoba. Učestalost javljanja je 3 na milijun primarno vakciniranih, a 40% oboljelih završava fatalno, neki koji prebole imaju trajna neurološka oštećenja.^{12,17} Patohistološki slični ostalim postvakcinalnim encefalitisima, s perivaskularnom upalom i demijelinizacijom.

Vakcinacija u slučaju bioterorističkog napada

U slučaju sumnje na velike boginje slučaj se mora prijaviti nadležnoj epidemiološkoj službi, bolesnika izolirati, uzeti klinički materijal te klinički pregledi i preliminarna laboratorijska dijagnostika trebaju biti obavljani za 8–24 sata.²³ Epidemiološke mjere poduzimaju se u skladu sa specifičnom situacijom.

- Preventivna vakcinacija kod prijetnje mogućeg terorističkog akta u neposrednoj budućnosti. Ne preporučuje se za širu populaciju, već samo za medicinsko i laboratorijsko osoblje koje je zaduženo za poslove zbrinjavanja takvih bolesnika i dijagnosticiranja uzročnika.
- Vakcinacija poslije terorističkog akta. Vakcinacija se preporučuje za: 1. osobe koje su bile eksponirane inicijalnom izvoru zaraze, 2. osobe koje su imale kontakt licem u lice, u kućanstvu, ili kontakt na udaljenosti manjoj od 2 m^{23,24} s osobom koja je dokazano oboljela ili pod sumnjom na bolest u bilo kojoj fazi od početka febriliteta pa dok krase ne otpadnu, 3. osobe koje sudjeluju u izravnoj medicinskoj i epidemiološkoj evaluaciji, zbrinjavanju i prijevozu bolesnika, 4. laboratorijsko osoblje koje sudjeluje u skupljanju i obradi suspektne kliničkog materijala, 5. drugo osoblje kod kojeg postoji velika vjerojatnost kontakta s infektivnim materijalom npr. medicinskim otpadnim materijalom, rubljem i posteljinom, te prilikom čišćenja prostorija u kojima je boravio bolesnik. Revakcinirane osobe koje su bile vakcinirane u djetinjstvu razvit će brži imuni odgovor od primovakciniranih, stoga te osobe treba staviti na poslove zbrinjavanja bolesnika u ranoj fazi epidemije, dok se ostali personal postepeno bude primovakcinirao.^{4,23}

Djeca i trudnice koji su imali kontakt s oboljelom osobom trebaju biti vakcinirani.^{4,23,25–29}

Mjere izolacije bolesnika

Osoblje koje ima izravni kontakt s oboljelim mora se striktno pridržavati mjera zaštite za bolesti koje se prenose kontaktom i kapljičnim putem (ogrtaci, rukavice, štitnici za oči, maske, navlake za cipele), posebno dok ne prođe 6–8 dana od vakcinacije.^{23,30}

Rublje i posteljina trebaju se autoklavirati ili prati u vrućoj vodi klornim sredstvima da bi se virus uništio.^{23,31,32}

Zaključno valja reći da je CDC izradio kategorizaciju uzročnika (označenu od najviše opasnosti, prijetnje +++ do najniže 0), mogućih sredstava bioterorističkog napada prema sljedećim kriterijima (javnozdravstveni učinak izazvane bolesti ili smrti u ljudi, mogućnosti zaražavanja velikog dijela populacije u

odnosu na stabilnost, masovnu proizvodnju, virulenciju i širenje uzročnika, mogućem prijenosu s jedne osobe na drugu, javnom doživljavanju pojave određene bolesti te spremnosti i opremljenosti javnozdravstvene službe za borbu s određenom bolešću) (tablica 2 i 3).³³ Virus variole svrstan je u kategoriju A, jer kao i drugi uzročnici iz ove kategorije, ima najveći javnozdravstveni učinak s mogućim velikim brojem oboljelih i zahtijeva najveće mjere pripremljenosti za specifičnu dijagnostiku i profilaksu bolesti (tablica 2).

LITERATURA

- Moss B. Poxviridae: The viruses and their replication. U: Fields BN, Knipe DM, i sur., ur. *Virology*, 3. izdanje, Raven Press, Ltd., New York, 1998, str. 2639–71.
- Madjarić D. Velike boginje – prva pobijedena pošast. *Priroda* 1979/80; 68(2/3):41–7.
- Rosenthal SR, Merchlsinsky M, Kleppinger C, Goldenthal KL. Developing new smallpox vaccines. *Emerg Infect Dis* 2001;7:920–6.
- Fenner F, Henderson DA, Arita I, Jezek Z, Ladnyi ID. Smallpox and its eradication. Geneva: World Health Organization; 1988.
- Weisz-Maleček R, Ikić D, Serdarević S, Vodopija J, Manhalter T, Rasuhin-Vekić N. Primary vaccination of older children and adults with HDC WI-58-grown smallpox vaccine. Symposium on combined vaccines. Zagreb, JAZU, 1972, str. 169–78.
- Ikić D, Weisz-Maleček R, Hećimović M, Rasuhin-Vekić N, Delimar N. Characteristics of Berne-Zagreb vaccinal strain. Proceedings. Symposium on smallpox. Yugoslav Academy of Sciences and Arts, Zagreb, 1969, str. 81–90.
- Ikić D, Weisz-Maleček R, Juzbasić M, Manhalter T, Delimar N. Human diploid cell grown smallpox vaccine. Proceedings. Symposium on smallpox. Yugoslav Academy of Sciences and Arts, Zagreb, 1969, str. 143–51.
- Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DHL i sur: Virus taxonomy. Sixth report of the international committee on taxonomy of viruses, Arch of Virol (suppl. 10), Springer-Verlag, Wien, 1995.
- Fenner F. Poxviruses. U: Fields BN, Knipe DM i sur., ur. *Virology*, 3. izdanje, Raven Press, Ltd., New York, 1998, str. 2673–702.
- Behbehani AM. Poxviruses. U: Lennette EH, Lennette DA, Lennette ET, ur. Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections, 7. izdanje, American Public Health Association, Washington, DC., 1995, str. 511–20.
- Henderson DA. Bioterrorism as a public health threat. *Emerg Infect Dis* 1998;4:488–92.
- Henderson DA. Smallpox: clinical and epidemiologic features. *Emerg Infect Dis* 1999;5:537–9.
- Henderson DA. The looming threat of bioterrorism. *Science* 1999;283:1279–82.
- Wehrle PF, Posch J, Richter KH, Henderson DA. An airborne outbreak of smallpox in a German hospital and its significance with respect to other recent outbreaks in Europe. *Bull Wld Hlth Org* 1970;43:669–79.
- Livijnjenko S, Arsic B, Borjanovic S. Epidemiologic aspects of smallpox in Yugoslavia in 1972. Geneva: World Health Organization (WHO/SE/73.57); 1973, str. 1–13.
- Stojković Lj. (ur.) Variola u Jugoslaviji 1972. godine. Izabrani materijali s Jugoslavenskog simpozija o varioli održanog u Primoštenu 21–24. 11. 1972, Ljubljana, LEK, 1972.
- Brudnjak Z. Laboratorijska ispitivanja u periodu epidemije velikih boginja u Jugoslaviji 1972. godine. Zbornik radova 2. kongresa mikrobiologa Jugoslavije s međunarodnim sudjelovanjem, Opatija, 1972, str. 608–9.
- Preston R. The demon in the freezer. *The New Yorker* 1999;12:44–61.
- Meltzer MI, Damon I, LeDuc JW, Millar D. Modeling potential responses to smallpox as a bioterrorist weapon. *Emerg Infect Dis* 2001;7:959–69.
- Centers for Disease Control. Smallpox vaccine no longer available for civilians – United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1983;32:387.
- McClain DJ, Harrison S, Yeager CL, Cruz J, Ennis FA, Gibbs P, et al. Immunologic responses to vaccinia vaccines administered by different parenteral routes. *J Infect Dis* 1997;175:756–63.
- F-D-C Reports, Inc. Vero cell standardized tests for adventitious agents urged by FDA panel. *The Pink Sheet* 2000;62:19–20.
- CDC. Vaccinia (smallpox) vaccine recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP). *MMWR* 2001;50(RR-10):1–25.
- CDC. Prevention of plague: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 1996;45(RR-14):1–15.
- Public Health Service. Recommendations of the Public Health Service Advisory Committee on Immunization Practices: smallpox vaccine. Washington, DC: Public Health Service, 1972.
- Goldstein JA, Neff JM, Lane JM, Koplan JP. Smallpox vaccination reactions, prophylaxis, and therapy of complications. *Pediatrics* 1975;55:342–7.
- Greenberg M, Yankauer A, Krugman S, Osborn JJ, Ward RS, Dancis J. Effect of smallpox vaccination during pregnancy on the incidence of congenital malformations. *Pediatrics* 1949;3:456.

28. Green DM, Reid SM, Rhaney K. Generalized vaccinia in the human fetus. *Lancet* 1966;1:1296.
29. Harley JD, Gillespie AM. Case of complicated congenital vaccinia. *Pediatrics* 1972;50:150-2.
30. Garner JS. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;17:53-80.
31. Dixon CW. Smallpox. London, England: Churchill, 1962.
32. Henderson DA, Inglesby TV, Bartlett JG, et al. For the Working Group on Civilian Biodefense. Smallpox as a biological weapon: medical and public health management. *JAMA* 1999;281:2127-37.
33. Rotz LD, Khan AS, Lillibridge SR, Ostroff SM, Hughes JM. Public health assessment of potential biological terrorism agents. *Emerg Infect Dis* 2002;8:225-30.

BOLESTI PROFESIONALNIH GLAZBENIKA INSTRUMENTALISTA

WORK RELATED DISEASES IN PROFESSIONAL MUSICIANS INSTRUMENTALISTS

EUGENIJA ŽUŠKIN, JADRANKA MUSTAJBEGOVIĆ,
MARIJA ZAVALIĆ, ANA BOGADI-ŠARE, MLADEN PAVLOVIĆ, NADA TURČIĆ*

Deskriptori: Profesionalne bolesti – etiologija; Glazba

Sažetak. Opisane su profesionalne bolesti, bolesti vezane uz rad i profesionalna stigmata u profesionalnih glazbenika. Navedene su glavne bolesti i simptomi vezani uz pojedine organske sustave, poglavito mišićno-koštani, živčano-mišićni, dišni, kožni sustav, bolesti zuba i usne šupljine, kao i utjecaj prekomjerne buke i posljedica stresa. Posebno su opisane preventivne mjere radi promicanja zdravlja glazbenika.

Descriptors: Occupational diseases – etiology; Music

Summary. Occupational diseases, work-related diseases and occupational stigma in professional musicians are discussed. Predominant diseases and symptoms related to various organic systems, such as musculoskeletal, neuromuscular, respiratory system, skin, mouth and teeth diseases, as well as the effect of noise and psychological stress, have been listed. The preventive measures in order to promote health of musicians are described in particular.

Liječ Vjesn 2003;125:23-28

Prvu publikaciju, koja sveobuhvatno opisuje zdravstvene probleme glazbenika, »O bolestima radnika« (De morbis artificum diatriba), napisao je godine 1713. Ramazzini.¹ Zdravstveni problemi glazbenika, među kojima prevladavaju strah od nastupa, stres, bolni simptomi, sindrom prenaprezanja i motorički poremećaji, koji su u glazbenika profesionalne bolesti ili bolesti vezane uz rad, sve su češće područje djelovanja medicine rada: poboljšavaju se metode dijagnostike i liječenja, raste svjesnost o specifičnim problemima vezanim uz profesiju i način života profesionalnih glazbenika te unapređuje provođenje zdravstvenoga preventivnog programa s naglaskom na interdisciplinarni pristup tim problemima.²

Briga za zdravlje profesionalnih glazbenika nije dovoljno naglašena. Bolesti vezane uz radno mjesto i radni okoliš glazbenika često su uzrokovane raznolikim čimbenicima, kao što su brzo i snažno izvođenje radnja koje zahtijevaju preciznost, bimanualni rad, loš ergonomski položaj, stres, nepovoljna mikroklima, nezadovoljavajuća rasvjeta, prekomjerna buka i vibracije.³ Hoće li se u pojedinog glazbenika pojaviti zdravstvene tegobe ili razviti i bolest, osim profesionalne aktivnosti i specifičnosti instrumenta koji se rabi za izvođenje glazbe, ovisi i o individualnim karakteristikama osobe. Knishkowsky i Lederman⁴ opisali su u 50 do 60% instrumentalista tegobe mišićno-koštanog sustava kao posljedicu sviranja na gudačkim instrumentima i na glasoviru. Neurobiološka istraživanja pokazuju da se glazbenici razlikuju od neglazbenika po strukturi i moždanoj funkciji te hormonalnom i imunskom statusu.⁵ Rezultati istraživanja u profesionalnih glazbenika Zagrebačke filharmonije upućuju na to da neprirodan položaj tijela pri sviranju te naprezanje vratnih mišića potenciraju morfološke promjene na kralježnici.^{6,7} Škrgatić i sur.⁶ te Krapac i Zergollern⁷ uočili su u 63% violinista alorodozu vratnog dijela kralježnice,

u 62% hipertrofiju trnastog nastavka drugog vratnog kralješka, a u 38% hipertrofiju trnastog nastavka sedmoga vratnog kralješka. Lederman⁸ je u glazbenika 1994. godine kao najčešće funkcionalne promjene utvrdio mišićno-koštane poremećaje (64%), poremećaje perifernih živaca (22,5%) i fokalnu distoniju (7%). Fizički zahtjevi sviranja na glazbenim instrumentima mogu uzrokovati bol, gubitak osjeta i pomanjkanje koordinacije.^{9,10} Krapac i sur.¹¹ utvrdili su u glazbenika spondilozu i cervikalni sindrom kao najčešće poremećaje. Slijede palpacija (30%), oticanje ruku (23%), strah (17%) te osjećaj pomanjkanja zraka (10%). U drugom ispitivanju Krapac i sur.¹² su utvrdili sindrom bolnih leđa u 20% glazbenika, bol cervikalne kralježnice u 19% glazbenika te blagu periartropatiju u 8% glazbenika.

Među našim je liječnicima također velik broj onih koji se glazbom bave aktivno kao instrumentalisti.¹³ Zdravstveni problemi glazbenika mogu dovesti i do privremene ili trajne nesposobnosti muziciranja i potpunog prekida karijere. Glazbenici moraju muzicirati pred slušateljstvom, pod stalnom su kritikom dirigenta i od njih se očekuje perfekcionizam u izvođenju glazbenih kompozicija. Pijanisti i gudači imaju dulju profesionalnu karijeru u usporedbi s osobama koje sviraju puhačke instrumente. Larson i sur.¹⁴ utvrdili su u glazbenika koji sviraju

* Škola narodnog zdravlja »Andrija Štampar«, Zagreb (prof. dr. sc. Eugeniya Žuškin, dr. med.; prof. dr. sc. Jadranka Mustajbegović, dr. med.), Hrvatski zavod za medicinu rada, Zagreb (dr. sc. Marija Zavalčić, dr. med.; prim. dr. sc. Ana Bogadi-Šare, dr. med.), Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb (dr. sc. Mladen Pavlović, dr. med.); Hrvatski zavod za mirovinsko osiguranje, Zagreb (dr. sc. Nada Turčić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. sc. E. Žuškin, Škola narodnog zdravlja »Andrija Štampar«, Rockefellerova 4, 10000 Zagreb

Primljeno 29. ožujka 2002., prihvaćeno 3. listopada 2002.