

Smallpox and bioterrorism

Mohammad Reza Rahnemon¹,
Mohammad Javad Sobhaniefar¹,
Mohammad Reza Haghshenas²

¹ Institute for Defense Affairs, University of Imam Hussain (AS), Tehran, Iran

² Associate Professor, Department of Microbiology, Molecular and Cellular Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received July 6, 2013 ; Accepted August 12, 2013)

Abstract

Smallpox is a serious infectious disease to have ever afflicted mankind. Smallpox is caused by variola virus, which belongs to a family of viruses known as poxviridae. Pox viruses are large DNA viruses which are 200-400 nm. The smallpox prodrome is characterized by the sudden on-set of high fever (38.5°C-40.5°C) and malaise 10 to 14 days after exposure. As populations grew and migrated, the disease spread across the globe, killing millions of people and shaping the course of history. Since 1978, no cases of smallpox have been reported to the World Health Organization from anywhere in the world, the last case had an onset of rash in 1977 in Somalia. However, a total of 2 years of effective surveillance must elapse before this last endemic area can be confirmed to be smallpox-free. The objective of this study was to describe a public-health response to smallpox as using for bioterrorism. In this study, we use Google Scholar, Med line, CDC, site of Ministry of Health and Medical Education and World Health Organization. Smallpox has a high mortality rate and can spread through aerosols and because the population is highly susceptible to the infection. The severity of variola, which includes variola major and variola minor, is related to the virulence of the infecting strains. The case fatality is about 1% for the minor form and up to 45% for the major that two less common clinical forms are the hemorrhagic and flat-type. Smallpox has a high mortality rate and can spread through aerosols, and immunity in the population is low. An outbreak of smallpox will be controlled through surveillance, containment, vaccination, and isolation of cases. Smallpox was eradicated before the development of modern antiviral drugs. Treatment is supportive as to the attention to treatment of bacterial super infection. Death from smallpox is usually the result of severe toxemia, septic shock or disseminated intravascular coagulation. There is great concern that smallpox is an excellent candidate for use as a terrorist weapon.

Keywords: Smallpox, Variola virus, Bioterrorism, Terrorist weapon

آبله و آمادگی برخورد با حملات بیوتروبیستی

محمد رضا رهنمون^۱محمد جواد سبحانی فر^۱محمد رضا حق شناس^۲

چکیده

ریشه کنی موفقیت آمیز آبله در ۳۳ سال گذشته در دنیا به واسطه واکسن موثر بر ضد آن و عدم ایمنی افراد در حال حاضر موجب شد که این ویروس عامل خوبی به عنوان یک سلاح بیولوژیک مورد توجه قرار گیرد. بیماری آبله، بیماری ویروسی حاد با قابلیت سرایت فوق العاده شدید و خطرناکی است که در اثر آلودگی با ویروس واریولای مازور از خانواده پاکس ویروس ایجاد می شود. عامل بیماری در منبع عفونت می تواند ماه ها باقی بماند و ویروس آبله از راه تنفسی و در اثر تماس مستقیم با فرد آلوده منتقل می شود. با توجه به قدرت کشندگی بالای ویروس Variola Major، در صورت استفاده از آن به صورت غیر متعارف می تواند خسارت جبران ناپذیری را ایجاد کند. این مطالعه با هدف مروری بر آمادگی و اقدامات مورد نیاز در صورت استفاده احتمالی از ویروس آبله به عنوان یک سلاح بیولوژیک انجام شده است. در این بررسی از بانک های اطلاعاتی Medline, Google Scholar, CDC و از سایت های سازمان بهداشت جهانی (WHO) و وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی استفاده شده است. درمان آبله به صورت حمایتی انجام می گیرد و داروی خاصی برای درمان بر علیه آن وجود ندارد و در صورت بروز بیماری، ایجاد تیم های اضطراری برای محافظت از جمعیت و شبکه اطلاع رسانی جهت کنترل بیماری و آگاهی کادر درمانی ضروری است. هم چنین مراقبت از بیماران در مراکز درمانی و در شرایط خاص می تواند در کنترل بیماری، عدم گسترش بیش تر بیماری و کاهش شدت آن کمک نماید. با توجه به سوابق تولید سلاح های بیولوژیکی و استفاده از آن و هم چنین دارا بودن برخی از سویه های خطرناک نظیر ویروس آبله، آمادگی کشورها و جوامع در خصوص مواجهه با چنین معضلی ضروری است.

واژه های کلیدی: بیوتروبیسم، سلاح های بیولوژیک، جنگ بیولوژیک، آبله، Variola Major

مقدمه

از عامل بیولوژیک، افراد مواجه با آن یک دوره کمون از چند روز تا چند هفته را تجربه کرده که این دوره بسته به نوع پاتوژن، شدت بیماری و پاسخ ایمنی افراد آلوده متفاوت خواهد بود (۱).

سلاح های بیولوژیک قدرت تخریبی فوق العاده ای دارند که با ایجاد اختلال و قدرت کشندگی در موجودات

سلاح های بیولوژیک و نگرانی های استفاده از آنها

سلاح های بیولوژیکی، ابزارهایی هستند که با هدف انتشار عمدی ارگانیسم های بیماریزا و یا فرآورده های آنها جهت کشتن و یا آسیب رساندن به انسان ها، حیوانات و گیاهان با قصد و نیت قبلی و به منظور وحشت آفرینی و تهدید طراحی شده اند. در اثر استفاده

مؤلف مسئول: محمد رضا حق شناس - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E-mail: Haghsheenas2001@yahoo.com

۱. پژوهشکده امور دفاعی، دانشگاه امام حسین (ع)، تهران، ایران

۲. دانشیار، گروه میکروبی شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۱۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۵/۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۵/۲۱

بیولوژیک انجام شده است. در این بررسی از بانک‌های اطلاعاتی Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Google Scholar, Med line و از سایت‌های سازمان بهداشت جهانی (WHO) و وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و از کلمات کلیدی، بیوتوریسم سلاح‌های بیولوژیک، جنگ بیولوژیک، آبله و Variola Major استفاده شده است.

استفاده از میکرواورگانیزم‌ها به عنوان سلاح بیولوژیک سازمان جهانی بهداشت میکرواورگانیزم‌های مختلف را بر اساس سهولت انتقال، شدت ابتلا، میزان مرگ و میر و احتمال دسترسی به عوامل بیولوژیک به سه دسته تقسیم نموده اند که عبارتند از:

عوامل بیماری‌زای گروه A: این گروه به آسانی از فردی به فرد دیگر منتقل و به آسانی منتشر شده و باعث مرگ و میر زیادی در جامعه می‌گردند. این دسته از اورگانیزم‌ها باعث ایجاد ترس و وحشت عمومی و از هم پاشیدگی جامعه می‌گردند و جهت جبران صدمات بهداشتی ناشی از آن‌ها به عملیات ویژه نیاز می‌باشد. این دسته شامل عوامل سیاه زخم، بوتولیسم، تولاومی، طاعون، آبله، تب‌های هموراژیک (ابولا، ماربوک و آرژانتین) و تب لاسا می‌باشد (۹-۶).

عوامل بیماری‌زای گروه B: این گروه از ارگانیزم‌ها با سهولت نسبی منتشر می‌شوند و بیماری با شدت متوسط و مرگ و میر پایینی داشته و نیاز به اقدامات تشخیصی خاص و نظارتی بعدی دارند. این دسته شامل عوامل تب Q، بروسلوز، سالمونلا، شیکلا دیسانتری، وبا، E.coli O157:H7، مسمشه، آنسفالیت و نزولانسی، آنسفالیت اسب شرق و غربی، کریپتوسپوریدیوم پاروم، بیماری‌های ناشی از توکسین کلستریدیوم پرفرنجنس و آنتراتوکسین B استافیلوکوک می‌باشد (۹-۶).

عوامل بیماری‌زای گروه C: این گروه شامل پاتوژن‌های نوپیدیدی که با بهره‌گیری از فناوری‌های مهندسی ژنتیک، قابلیت تغییر به منظور انتشار انبوه را

زنده و به‌ویژه انسان‌ها، قادرند قربانیان خود را به شکلی بسیار دردآور و غیر انسانی کشته یا ناتوان کنند. در سالیان گذشته برخی از کشورها به تولید این سلاح‌ها پرداخته که در برخی از موارد متأسفانه شاهد استفاده از آن‌ها بوده‌ایم و هم‌چنین برخی از کشورها پرسنل نظامی خود را علیه برخی از عوامل میکروبی بیوتوریسم واکسینه کرده و جهت ارتقاء آگاهی‌های عمومی به‌خصوص افراد در معرض خطر، برنامه‌ریزی‌های جدی را داشته‌اند (۲). متخصصین سلامت عمومی و نظامی قوانینی را جهت شناخت پرتهدیدترین و خطرناکترین سلاح‌های بیولوژیک وضع کرده‌اند، به‌خصوص سلاح‌هایی که از نظر گسترش و شدت آلودگی و میزان مرگ و میر خطرناک‌تر هستند (۳).

سوابق حاکی از آن است که پیش‌بینی احتمال عدم استفاده از سلاح‌های بیولوژیک و مخرب غیرممکن به نظر می‌رسد و در بین متخصصین نگرانی‌هایی در مورد احتمال استفاده از این تسلیحات وجود دارد (۴،۵) چرا که تکنولوژی مربوط به شناخت سلاح‌های بیولوژیک و ساخت آن‌ها مشکل و گران قیمت به نظر نمی‌رسد و هم‌چنین عوامل میکروبی مورد نیاز برای اکثر سلاح‌های بیولوژیک را به دلیل تکثیر و نگهداری آسان، به راحتی می‌توان تهیه کرد (۵). وسعت و شدت یک اپیدمی که توسط سلاح‌های بیولوژیک ایجاد می‌شود به خصوصیات آن اورگانیزم، فرآورده‌های آن، محیطی که سلاح بیولوژیک در آن محیط استفاده شده، سرعت آسیب و پاسخ ایمنی و سلامت بستگی دارد. با توجه به ریشه‌کنی بیماری آبله و عدم گزارش بیماری از سال ۱۹۷۸ و هم‌چنین قطع عمل واکسیناسیون از سال ۱۹۸۰ و عدم ایمنی افراد متولد شده بعد از زمان فوق و سرعت گسترش سریع، احتمال استفاده از ویروس آبله به‌دلیل سهولت تکثیر، به‌عنوان یک عامل کشتار جمعی سناریویی غیر ممکن نمی‌باشد (۴). این مطالعه با هدف مروری بر آمادگی و اقدامات مورد نیاز در صورت استفاده احتمالی از ویروس آبله به‌عنوان یک سلاح

دارا می‌باشند. این دسته به آسانی قابل تولید و انتشار می‌باشند و دارای قابلیت بالقوه ایجاد بیماری در سطح وسیع، کشندگی بالا و اثرات تخریبی عظیم بر پیکره بهداشت می‌باشند. این دسته شامل ویروس‌های گروه تیپا، هانتا، ویروس‌های عامل تب‌های هموراژیک منتقله از طریق کهنه، ویروس‌های مولد آنسفالیت منتقله از طریق کهنه، تب زرد، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به چندین دارو می‌باشند (۹-۶). یک سلاح مناسب بیولوژیک باید دارای قابلیت اطمینان بالا، قیمت نازل، سرایت شدید، در دسترس بودن واکسن مربوطه و امکان پخش آن به صورت گاز، افشانه و یا گرد باشد. عوامل بیماری‌زا که به منظور استفاده در سلاح‌های میکروبی در نظر گرفته می‌شوند بایستی بسیار قوی و به شدت مهلک بوده، هم‌چنین ساخت و آماده‌سازی میکروب‌ها برای استفاده در این سلاح‌ها بسیار آسان و سریع صورت می‌گیرد. برای تبدیل یک عامل بیماری‌زا به یک سلاح بیولوژیک مؤثر، باید سه ویژگی وجود داشته باشد که شامل انتقال از یک فرد به فرد دیگر، دوره واگیر طولانی به حدی که فرد بیمار بتواند آن را منتقل کند و توانایی ناتوان کردن یا از پای در آوردن بیمار را داشته باشد. بر این اساس مناسب‌ترین سلاح‌های بیولوژیک شامل: عامل سیاه زخم، طاعون، تولارمی، تب Q، آنسفالیت‌های اسبی، تب‌های هموراژیک و آبله می‌باشند (۹-۶).

تاریخچه استفاده از سلاح بیولوژیک

سابقه کاربرد عوامل بیولوژیک در جنگ و عملیات بیوتروبیستی به چندین قرن قبل از میلاد مسیح بر می‌گردد (۱۲-۱۰) به طوری که حدود ۵۹۰ سال قبل از میلاد آتنی‌ها منبع آب شهر Kirrha را با توکسین مشتق شده از گیاه خریق (Hellbore) از خانواده آلاله آلوده کردند (۱۳). در طول قرن چهارم قبل از میلاد سکاها با آغشته کردن نوک کمان‌های خود به سم مار، خون انسان و مدفوع حیوانات جهت آلوده کردن دشمنان بر روی عرشه کشتی استفاده کردند. هم‌چنین در سال ۱۸۴

قبل از میلاد پادشاه پرگامون بنام هانیبال کارتاژ با دستور پرتاب مار سمی بر علیه دشمنان روی عرشه کشتی استفاده کرد (۱۴). در سال ۱۳۴۶ میلادی قوم تاتار با پرتاب اجساد مردگان ناشی از طاعون جهت آلوده کردن شهر کافا (Feodosia، اوکراین) و شکستن مقاومت مردم استفاده کرده که باعث ابتلا و کشتار تعداد زیادی از اهالی شهر گردیده اند (۱۵). و در سال ۱۷۱۰ میلادی روس‌ها از همین روش بر علیه مردم سوئد استفاده کردند (۱۶). به نظر می‌رسد که طی سال‌های ۱۷۵۴ تا ۱۷۶۷ نیروهای انگلستان از آبله به‌عنوان یک ابزار بر علیه قبایل بومی آمریکا (سرخپوستان) جهت از بین بردن مقاومت آن‌ها و تصرف سریع‌تر مناطق تحت کنترل‌شان استفاده کردند. آن‌ها با آلوده کردن پتو، البسه و سایر ضروریات زندگی به آبله در غالب کمک بشردوستانه بر علیه سرخپوستان جنگ زده باعث ابتلای عده کثیری از افراد آن قبایل شده که این آلودگی منجر به مرگ و میر بالایی در آن جمعیت شد (۱۷). در طول جنگ جهانی اول (۱۹۱۴ تا ۱۹۱۸) امپراتوری آلمان برنامه استفاده از سلاح بیولوژیک آنتراکس را بر علیه کشورهای روسیه، رومانی، آمریکا و فنلاند در دستور کار خود قرار داد (۱۴، ۱۸). در سال ۱۹۴۸ آب شهر عکا با استفاده از باکتری سالمونلا تیفی آلوده شده که باعث شیوع بیماری حصبه در میان نیروهای مصری و سربازان هاگانا (نزدیک مرز غزه) شد (۱۹). در اواسط دهه ۱۹۷۰ کشور موزامبیک توسط باکتری وبا و سم کومادین سدیم مورد حمله قرار گرفت و هم‌چنین بین سال‌های ۱۹۷۸ تا ۱۹۸۰ جهت مقابله با نیروهای ZANLA، مواد غذائی آلوده به اسپور آنتراکس آلوده شده باعث آلوده شدن حدود ۱۰۰۰۰ نفر از مردم به سیاه زخم و مرگ ۲۰۰ نفر از آن‌ها شده بود (۲۰). بین دهه‌های ۱۹۸۰ و ۱۹۹۰ کشور آمریکا از عامل میکروبی تب خوک علیه انقلابیون کوبا استفاده کرد (۲۱). در شروع قرن ۲۱ استفاده از بسته‌های پستی حاوی باسیلوس آنتراسیس در آمریکا باعث ایجاد رعب و وحشت شد و موضوع

استفاده از سلاح بیولوژی به عنوان ابزار بیوتروریسم توجه ویژه‌ای را به خود معطوف کرد (۲۲).

آبله به عنوان یک سلاح بیولوژیک

آبله از گروه ترسناک‌ترین بیماری‌های عفونی با قابلیت سرایت فوق‌العاده شدید و خطرناک محسوب شده که امروزه بیش از هر زمان دیگری ممکن است بهداشت عمومی را تهدید کند. عامل این بیماری در یک جمعیت متحرک و حساس می‌تواند به سرعت و در سطح وسیعی از جهان منتشر شود (۲۵-۲۳). زمانی آبله انتشار جهانی داشت اغلب انسان‌ها سرانجام به این بیماری مبتلا می‌شدند و در قرن بیستم ۳۰۰ تا ۵۰۰ میلیون نفر در دنیا جان خودشان را در اثر ابتلا به بیماری آبله از دست داده‌اند (۲۶). امروزه با گذشت بیش از ۳۳ سال از ریشه‌کنی جهانی بیماری آبله و قطع عمل واکسیناسیون از سال ۱۹۸۰ در دنیا، بیش از نیمی از جمعیت دنیا فاقد ایمنی علیه این بیماری می‌باشند (۲۷).

علی‌رغم این که انتشار و توسعه بیماری آبله در بین انسان‌ها به صفر رسیده، لیکن بالاترین حد حساسیت در بین انسان‌ها وجود دارد و استفاده از جنگ افزار بیولوژیک منتفی نمی‌باشد و متأسفانه ویروس آبله به عنوان یک سلاح بیولوژیک در صدر عوامل مخاطره آمیز قرار دارد. امروزه در صورتی که از این ویروس به عنوان یک جنگ افزار بیولوژیک استفاده کنند به دلیل عدم وجود ایمنی در افراد، خطر عظیمی جامعه را تهدید خواهد کرد و در صورت شیوع بیماری آبله بیش از ۳۰ درصد از افراد واکسینه نشده جان خود را از دست خواهند داد (۲۸، ۲۳). این واقعیت که ویروس آبله در شکل افشانه، بیماری‌زا واقع شده و دوز آلوده کننده پایینی دارد موجب شده که ویروس آبله توانایی تبدیل به سلاح بیولوژیک را داشته باشد (۲۴، ۲۳). در سال ۱۹۸۰ سازمان جهانی بهداشت توصیه نمود که کشورها ذخایر باقی مانده ویروس آبله در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی شان را از بین ببرند و سوش‌های ویروس‌های شناخته شده واریولا (عامل آبله) در دنیا فقط در دو مرکز، مرکز

پیشگیری و کنترل بیماری‌های واگیر در آمریکا و دیگری انستیتو تحقیقاتی ویروس‌شناسی در روسیه در شرایط کاملاً امن و جهت اهداف پژوهش نگهداری شوند (۳۱). ولی سال‌ها بعد توصیه شده است که این دو مرکز هم ذخایر ویروس آبله را تا سال ۲۰۱۱ از بین ببرند، اما بعداً علاوه بر حفظ ویروس آبله، توجه زیادی به این ویروس به عنوان سلاح بیولوژیک شده است به طوری که به صورت فعال در برنامه تحقیقاتی - دفاعی آنان قرار گرفت و ذخیره نمودن ویروس آبله با اهداف جنگی مورد توجه کشورهای دیگر قرار گرفت. علی‌رغم ریشه‌کنی بیماری آبله ممکن است از ویروس آبله به عنوان جنگ افزار بیولوژیک استفاده شود (۲۶)، لذا لازم است در مورد بازگشت مجدد این بیماری عفونی و آمادگی لازم در مراکز آموزشی و بهداشتی - درمانی در مواجهه با آن توجه بیش‌تری شود.

ویروس‌شناسی آبله

ویروس آبله نوعی ویروس DNA از خانواده Poxviridae می‌باشد که اندازه آن از ۲۰۰ تا ۴۰۰ نانومتر (میکرون) متفاوت است. پاکس ویروس‌ها تنها ویروس‌های دارای DNA می‌باشند که تمام مراحل تکثیر آن‌ها در داخل سیتوپلاسم سلول انجام می‌گیرد. تکثیر و انباشته شدن ذرات ویروس در سیتوپلاسم سلول باعث ایجاد انکلوژیون‌های ائوزینوفیلیک شده که این ترکیبات با استفاده از میکروسکوپ نوری قابل مشاهده می‌باشند (۳۰). بیماری آبله توسط دو نوع ویروس ایجاد می‌شود که این ویروس‌ها شامل Variola Major، Variola Minor می‌باشند. عفونت با Variola Minor در افراد آلوده با شدت کم‌تری بروز کرده و دارای میزان مرگ و میر بسیار پایینی (۱ درصد) می‌باشد. در حالی که Variola Major با شدت بیش‌تری ایجاد عفونت شده و میزان مرگ و میر بالایی (۳۰ درصد) دارد (۲۳).

اپیدمیولوژی آبله

ویروس آبله در اثر تماس مستقیم با فرد آلوده،

تماس با ضایعات آلوده و یا از طریق ذرات آلوده تنفسی و معلق در هوا منتقل می‌شود. عامل بیماری آبله در فرد مبتلا قبل از بروز راش تا زمانی که تمام ضایعات بهبود پیدا کنند، آلوده کننده هستند. عامل بیماری در منبع عفونت می‌تواند ماه‌ها باقی بماند و ممکن است از طریق لباس، ملافه بیمار، گرد و غبار و یا سایر اشیاء موجود در اطراف بیمار، ویروس آبله منتشر شود (۲۳). زمانی آبله انتشار جهانی داشت و قبل از اقدام به واکسیناسیون مؤثر اغلب انسان‌ها سرانجام مبتلا به این بیماری می‌شدند. Variola Major در اواخر قرن نوزدهم در سراسر جهان با برتری بیش‌تری نسبت به Variola Minor منتشر شد ولی در اوایل قرن بیستم Variola Minor در اغلب نقاط منتشر گردید (۲۳، ۳۰). آخرین مورد آبله انسانی در سال ۱۹۷۷ از کشور سومالی گزارش گردید. بعد از بررسی مداوم خانه به خانه جهت موارد احتمالی در دسامبر ۱۹۷۷ ریشه کتی بیماری آبله انجام گردید و به دلیل عدم گزارش بیماری آبله و اثر سوء واکسن، عمل واکسیناسیون آن متوقف شده است (۳۱).

تشخیص آبله

تشخیص اولیه آبله براساس شرح حال و یافته‌های معاینات فیزیکی در فرد مظنون می‌باشد ولی جهت تأیید بیماری می‌بایست عامل بیماری آبله را از نمونه‌های بیماران جدا نمود که این عمل در آزمایشگاه معتبر و با استفاده از تست‌های آزمایشگاهی انجام می‌شود. عمل نمونه‌برداری می‌بایست با استفاده از ابزار و وسایل محافظتی نظیر دستکش، گان، ماسک، ... و توسط فرد مجرب و در شرایط خاص انجام گیرد و جهت انجام تست‌های تشخیصی نمونه‌ها به آزمایشگاه تخصصی منتقل می‌شوند. تهیه گسترش از نمونه‌ها و انجام رنگ‌آمیزی مناسب نظیر Wright و استفاده از میکروسکوپ‌های معمولی که در صورت وجود اجسام انکوزیون‌های سیتوپلاسمی (Guarnieri) در سلول‌های آلوده را نشان می‌دهد شواهدی از آلودگی به آبله

می‌باشد. هم‌چنین با استفاده از میکروسکوپ الکترونی می‌توان ذرات ویریون موجود در ضایعه را با استفاده از برش‌های نازک از بافت‌های مربوطه و رنگ‌آمیزی منفی مشخص نمود. وجود آنتی‌بادی بر علیه ویروس آبله را می‌توان با انجام تست‌های سرولوژی نظیر الیزا و خنثی‌سازی ویروس معین نمود. در این بررسی پس از ۷ تا ۱۰ روز از بیماری، از افراد آلوده نمونه‌برداری خون انجام شده و سپس با انجام تست الیزا و با استفاده از کیت‌های مناسب می‌توان آلودگی بیماری آبله را مشخص کرد. تشخیص ویروس آبله از نمونه‌های بیمار با کمک تکنیک‌های مولکولی و با استفاده از کیت مناسب و پروتکل خاص عمل جداسازی DNA صورت می‌گیرد که با استفاده از کیت PCR و پرایمرهای اختصاصی ویروس آبله، تست PCR انجام می‌شود. سپس با انجام الکتروفورز محل باند در محصول PCR مشخص می‌شود (۳۶-۳۲). سرعت زمان تشخیص شناسایی تماس از نظر زمان بروز آلودگی در کنترل بیماری مهم می‌باشد لذا در صورت تشخیص بیماری در روز اول آلودگی و ایزوله نمودن بیمار و هم‌چنین کنترل تماس هم‌راهان و ملاقات‌کنندگان با بیمار باعث محدود نمودن شمع آلودگی و کنترل بیماری می‌گردد (۳۷).

استراتژی واکسیناسیون آبله در زمان طغیان

استراتژی واکسیناسیون جهت پیشگیری از بیماری آبله و به منظور مراقبت از افراد جامعه در برابر شیوع احتمالی بیماری بسیار حائز اهمیت می‌باشد. اولین بار در سال ۱۷۹۶ واکسن آبله توسط ادوارد جنر ساخته شده است و تا نیمه قرن بیستم واکسن‌ها بر پایه ایمنی بر علیه ویروس واکسینا ساخته می‌شد که باعث ایجاد ایمنی بیش از ۹۷ درصد از افراد واکسینه شده می‌گردید. نتایج مطالعات متعدد نشان می‌دهد که میزان سطح ایمنی واکسن در اثر واکسیناسیون در جامعه متفاوت بوده است (۳۸، ۳۹). بررسی‌های اولیه بیانگر این بود که آنتی‌بادی‌های حاصله بر علیه واکسینا می‌تواند بیش از

نفر اتفاق بیافتد (۴۵) لذا در صورت استفاده از واکسن آبله در یک جمعیت ۷۵ میلیونی، احتمال مرگ و میر در اثر واکسیناسیون ۱۵۰ تا ۲۲۵ نفر پیش بینی می شود ولی در صورت شیوع بیماری و عدم واکسیناسیون میزان مرگ و میر تا ۳۰ درصد و گاهی بیشتر قابل پیش بینی خواهد بود (۲۳).

با افزایش نگرانی‌ها در اوایل قرن حاضر در رابطه با بیوتروریسم، ذخائر واکسن‌های آبله محدود شده است. کشور آمریکا جهت کنترل شیوع احتمالی بیماری آبله، برنامه تهیه واکسن مناسب جهت واکسیناسیون افراد را دستور کار خود قرار داده است و CDC جهت ساخت و تولید واکسن جدید برای ۴۰ میلیون دوز تا سال ۲۰۰۴ و ۱۰۰ میلیون دوز تا سال ۲۰۰۵ و برای ۳۰۰ میلیون دوز (برای کل جمعیت آمریکا) تا سال ۲۰۲۰ برنامه ریزی لازم را انجام داده است در حالی که ذخایر آبله در سایر کشورها محدود می باشد به گونه ای که ذخایر موجود واکسن حداکثر برای ۱۰ درصد جمعیت دنیا کافی است (۴۶). با توجه به عدم بروز بیماری آبله در دنیا واکسن‌های جدید آبله براساس ایمنی و ایمنی زایی، با واکسن درای واکس مقایسه می شوند (۴۸،۴۷). مراکز تحقیقاتی Acambis و Baxtor بر مبنای کشت سلولی یک NYCBOH به نام ACAM2000 را استخراج کردند که در سلول‌های حیوانی، ایمنی بیش تری ایجاد می کرد (۴۹،۵۰) که در کار آزمایی بالینی میزان تیتراهای آنتی بادی ACAM 2000 تا حدودی کم تر از درای واکس بود و برخی از مطالعات مشابه هم گزارش شده است (۴۹،۵۱). ACAM 2000 در سال ۲۰۰۷ توانست مجوز لازم را از مرکز FDA برای تولید کسب نماید (۴۹). هم چنین در طول سال‌های ۲۰۰۸ تا ۲۰۱۱ نزدیک به ۵۰۰ هزار سربازان آمریکا با استفاده از واکسن ACAM 2000 بر علیه بیماری آبله واکسینه شده اند که نتایج نشان داده است که میزان ایمنی ایجاد شده در این افراد همانند واکسن درای واکس بوده و عوارض ناشی از واکسیناسیون کم تر از درای واکس می باشد (۵۳). علاوه

۷۰ سال پس از واکسیناسیون وجود داشته باشد ولی میزان اثربخشی آن و سطح ایمنی آن ناشناخته است و در اثر واکسیناسیون میزان آنتی بادی جهت ایمنی لازم به مدت ۳ تا ۱۰ سال تأمین می شد و هر ۱۰ سال نیاز به انجام واکسیناسیون مجدد بوده است (۴۰،۴۱). ولی مطالعات بعدی نشان داده است که عمل واکسیناسیون و یا ایمنی پس از آلودگی باعث ایجاد مصونیت در افراد جامعه می گردد. بررسی انجام شده در سال ۲۰۰۴ بر روی سرم ۳۰۶ نفر افراد واکسینه شده بر علیه ویروس آبله در سنین مختلف ۲۵ تا ۷۵ سال و سرم ۲۶ نفر از افرادی که عمل واکسیناسیون در آن‌ها انجام نشده، نشان داده است که میزان آنتی بادی در افراد واکسینه شده در تمام سنین در آستانه (پاسخ آنتی بادی اختصاصی مؤثر در سرم افراد بر علیه ویروس واکسینیا ۱۰۰ IU بوده که به عنوان آستانه ایمنی افراد بیان شده است) ایمنی بوده است لذا این دسته از افراد نیاز به واکسیناسیون ندارند (۴۲). هم چنین مطالعه انجام شده بر روی تیتراژ IgG در سرم نگهداری شده ۲۴۶ نفر از افراد ۲۰۹ نفر عمل واکسیناسیون را حداقل یک بار انجام داده اند، ۲۹ نفر در طول زندگی سابقه عفونت با بیماری آبله داشته و ۸ نفر در دوران کودکی به بیماری آبله مبتلا شده اند، نشان داد میزان آنتی بادی در ۹۷ درصد از افراد واکسینه شده در آستانه ایمنی (۱۰۰ UT) بوده است و افرادی که در اثر آلودگی به بیماری آبله زنده مانده اند میزان آنتی بادی در سرم آن‌ها همانند افراد واکسینه شده بوده است (۴۱). واکسن‌های که برای ریشه کنی بیماری آبله استفاده شده دارای عوارضی هم بوده اند در اثر استفاده از واکسن عوارض جانبی شامل درد، خارش، سردرد، خستگی، درد عضلانی، حالت تهوع و لنفادنوپاتی همراه با ضعف گزارش شده و گاهی به ندرت باعث عوارضی شدید نظیر آنسفالیت، اگزمای واکسنی، واکنش ایمنی پیش رونده می شود (۴۳،۴۴). ممکن است تعداد زیادی در اثر عوارض واکسن آبله در بیمارستان بستری و ۱ تا ۲ مورد مرگ و میر و گاهی تا ۳ مورد در هر یک میلیون

بر واکسن‌های تولید شده، برخی واکسن‌های جدید شامل نژادهای زنده واکسینیا، نژادهای زنده ضعیف شده که ممکن است برخی از ژن‌های ویروسی را نداشته باشد و واکسن‌های غیرفعال که بالقوه ایمنی بیش‌تری را عرضه می‌کنند، در مراحل مختلف گسترش و تولید هستند (۴۵). توصیه می‌شود جهت مقابله با حملات احتمالی بیوتروویستی، برنامه‌ریزی لازم جهت تهیه واکسن مناسب و کافی انجام پذیرد تا در صورت بروز بیماری عمل واکسیناسیون ابتدا در افراد با ریسک بالا و در مناطق پرخطر و سپس در کل جامعه انجام شود. هم‌چنین با آموزش‌های مناسب و آمادگی لازم، می‌توان باعث کنترل بیماری آبله و کاهش مرگ و میر در جامعه شد.

استرژری درمان در زمان طغیان

درمان بر علیه بیماری آبله بیشتر به صورت حمایتی و با توجه به علائم بیماری انجام می‌شود. ابتدایی‌ترین راه مقابله با آبله واکسیناسیون بر علیه بیماری می‌باشد (۲۴). در حال حاضر دارویی که بتواند پس از بروز نشانه‌های اولیه بیماری موجب تغییر سیر طبیعی بیماری آبله گردد، وجود ندارد ولی اقدامات درمانی بسته به این که قبل از ایجاد پوستول و یا بعد از آن باشد متفاوت می‌باشد. قبل از پوستول اقدامات جهت کنترل بیماری آبله و مراقبت از بیمار صورت می‌گیرد و بعد از آن با اضافه شدن عفونت‌های باکتریایی، از آنتی‌بیوتیک مناسب جهت کنترل بیماری استفاده می‌شود (۵۵) و در فرم‌های شدید آبله و فرم هموراژیک می‌توان از گاماگلوبولین نیز استفاده نمود. داروهای آنتی‌هیستامین برای کاهش خارش پوست و محلول‌های مناسب نظیر سرم فیزیولوژی جهت مراقبت از چشم و هم‌چنین ایمنوگلوبولین جدا شده از سرم افراد واکسینه شده جهت درمان بیماری آبله و عوارض واکسن قابل استفاده می‌باشد (۵۶). استفاده از داروهای ضد ویروس نظیر Cidofovir در محیط In vitro باعث کاهش فعالیت پاکس ویروس‌ها می‌شود (۵۹-۵۷). با توجه به این که

مناسب‌ترین راه مقابله با بیماری آبله و کنترل شیوع احتمالی آن، انجام عمل واکسیناسیون بر علیه بیماری می‌باشد (۲۴)، لذا دولت آمریکا از سال ۲۰۰۱ جهت پوشش ایمنی در جامعه جهت تأمین ۳۰۰ میلیون دوز واکسن جدید آبله را تا سال ۲۰۲۰ در برنامه کاری خود قرار داده است (۴۶). در اوایل سال ۲۰۱۳، دولت آمریکا تأمین ۲ میلیون دوز واکسن جدید و آماده ساختن آن‌ها جهت پوشش افراد جامعه در یک رویداد بیوتروویست را برنامه‌ریزی کرده است (۲۷). در حال حاضر پرستاری و مراقبت از بیمار و استراحت او در بستر بیش‌تر از هر اقدام دیگری ارزشمند می‌باشد. ایزوله کردن بیمارانی که دارای علائم هستند در کنترل بیماری بسیار مهم می‌باشد. برخی از افراد ممکن است ویروس آبله را در اثر تماس با کانون بیماری و یا افراد آلوده دریافت کنند ولی فاقد علائم بالینی باشند لذا انجام واکسیناسیون در تمامی افرادی که با بیماری در تماس بوده‌اند امری ضروری می‌باشد. در صورت شیوع بیماری آبله عمل واکسیناسیون می‌بایست به صورت حلقه‌ای و تا شعاعی که احتمال تماس افراد با کانون آلودگی و فاصله محل زندگی آنان و تماس ملاقات کنندگان و کادر درمانی وجود دارد، انجام شود (۳۷). ضایعات آلوده ممکن است به نقاط دیگری انتقال یافته و باعث ایجاد آلودگی با شعاع بیش‌تری در جامعه گردد لذا برنامه‌ریزی جهت انجام واکسیناسیون می‌بایستی با شعاع بیش‌تری انجام شود. شیوع بیماری از یک منطقه کوچک آغاز خواهد شد و با استفاده از برنامه‌ریزی مناسب و واکسیناسیون حلقه‌ای می‌توان بیماری را کنترل نمود و در نتیجه اثر واکسیناسیون و ایجاد ایمنی در افراد، شیوع بیماری آبله در جامعه کنترل می‌شود (۳۷).

کنترل بیمارانی آبله و مراقبت‌های بهداشتی در زمان طغیان

توجه کافی و برنامه مناسب جهت پیشگیری، کنترل و درمان بیماری آبله بیش از پیش قابل توجه می‌باشد و در صورت گزارش یک مورد از بیماری آبله، تمام

افرادی که با بیمار و یا کانون آلودگی در تماس بوده‌اند (اطرافیان، بستگان، کادر درمانی و ...) می‌بایستی بلافاصله عمل واکسیناسیون در آن‌ها انجام شود و پیش‌بینی می‌شود که تا ۱۰ هزار نفر از اطرافیان بیمار واکسن دریافت کنند (۶۰). ایزوله کردن بیماران و مراقبت از آنان در مراکز درمانی می‌تواند در کنترل بیماری، عدم گسترش بیش‌تر بیماری و کاهش شدت بیماری کمک نماید و توصیه می‌شود جهت کنترل بیماری و عدم گسترش آن، بیماران با علائم آبله را در مراکز درمانی تحت نظر داشته باشند. هدف از جداسازی بیماران، جلوگیری از انتقال ویروس آبله از بیماران به سایر افراد، عیادت کنندگان و کادر پزشکی می‌باشد و در صورت عدم رعایت اصول جداسازی بیماران، امکان انتقال بیماری و بروز ناخوشی و مرگ و میر بسیار بالا خواهد بود. استفاده از وسایل پیشگیری کننده نظیر ماسک، گان، دستکش و... توسط افرادی که با بیماران و یا با نمونه‌های بیمار سرو کار دارند جهت کنترل بیماری ضروری است و می‌بایست مراقبت بهداشتی به صورت مناسب انجام شود به طوری که کلیه وسایل آلوده بیمار نظیر ملحفه، البسه‌ها و... بایستی سوزانده و یا با اتوکلاو استریل شوند. عمل واکسیناسیون افرادی که با بیماری آبله سرو کار دارند جهت ایجاد ایمنی ضروری است و در صورت تماس با فرد بیمار عمل واکسیناسیون بلافاصله بایستی انجام گیرد و اگر تماس با بیمار آلوده و یا با ضایعات بیماری بیش از سه روز گذشته باشد می‌بایست عمل واکسیناسیون توام با تزریق گاماگلوبولین انجام شود (۳۲، ۶۱، ۶۲).

فعالیت‌های نظارتی در برابر بیماری آبله در زمان طغیان
هیچ داروی خاصی برای درمان بر علیه آبله وجود ندارد و درمان آبله به صورت حمایتی انجام می‌گیرد ولی اقدامات اضطراری برای محافظت از جمعیت در صورت بروز بیماری اجتناب ناپذیر می‌باشد. در صورت شک به بیماری آبله در یک منطقه بایستی بلافاصله به مقامات

بهداشتی اطلاع داده شود و سپس تا تأیید آن بیماری آن منطقه می‌بایست تحت کنترل کامل قرار گیرد. در صورت بروز بیماری می‌بایست با ایجاد تیم‌های اضطراری و شبکه اطلاع رسانی، جهت کنترل بیماری و آگاهی کادر درمانی اقدام کرد. هم‌چنین کارکنان مراقبت‌های بهداشتی، پرسنل نظامی و پاسخ‌دهندگان اضطراری در صورت احساس خطر بیماری می‌بایست با انجام واکسیناسیون بر علیه بیماری آبله مصون گردند (۶۳). در صورت بروز بیماری در جامعه عمل واکسیناسیون بایستی بلافاصله ابتدا در مناطق پرخطر و سپس در کل جامعه انجام گیرد. یک پزشک با تجربه با بررسی علائم بیماری و راش می‌تواند آبله را تشخیص دهد لذا تأخیر در تشخیص و یا تشخیص اشتباه می‌تواند باعث گسترش عفونت و توسعه بیماری در جامعه شود. استفاده از شبکه وسیع و آنلاین که اطلاع رسانی را دقیق و به موقع انجام دهد به کادر درمانی، مراقبتی و تشخیصی جهت کنترل بیماری کمک خواهد کرد. مقامات بهداشتی می‌بایست فوراً دستورالعمل خود مبنی بر اقدامات حفاظتی برای پزشکان و پرستاران را با دقت دنبال کنند (۳۲). از آغاز قرن ۲۱ استفاده از ویروس آبله به عنوان یک ابزار بیولوژیک مطرح شده است و از سال ۲۰۰۳ پیشنهاد شده است که بیماری آبله در فرم گزارش بیماری‌ها که در مراکز بهداشتی و درمانی پر می‌شود، اضافه گردد. هم‌چنین کشور آمریکا در سال ۲۰۰۵ مانوری را در خصوص آمادگی و توانایی برخورد مراکز آزمایشگاهی و بهداشتی - درمانی جهت شیوع احتمالی آبله انجام داده است (۶۳). تشخیص اولیه براساس شرح حال و یافته‌های معاینه فیزیکی بوده و جهت تأیید آن، از تست تشخیصی آزمایشگاهی استفاده می‌شود. اگر بیماری آبله تشخیص داده شوند افرادی که با بیماری آبله در تماس بوده‌اند می‌بایست قرنطینه شوند و بلافاصله عمل واکسیناسیون و اقدامات درمانی برای آن‌ها انجام شود. هم‌چنین برنامه آموزش‌های عمومی و تخصصی می‌تواند در کاهش و کنترل بیماری کمک کند. ایجاد مراکز آزمایشگاهی

مجهز با کادر مجرب جهت تشخیص سریع و به موقع نمونه‌های مشکوک و آماده سازی مراکز درمانی جهت درمان آبله و کنترل بیماری و آماده سازی پروتکل برای پیشگیری و کنترل بیماری، امری ضروری می‌باشد (۶۳، ۶۴). در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در سال‌های اخیر استفاده از سلاح‌های بیولوژیک نظیر آبله و یا سایر عوامل عفونی باعث ایجاد نگرانی در جامعه شده است لذا تهدید حمله بیوتروویستی و استفاده از ویروس آبله به عنوان سلاح بیولوژیک غیرممکن نمی‌باشد و آن را به عنوان یک تهدید بالقوه بایستی جدی گرفت (۶۵، ۶۶). اصول اساسی کنترل حملات بیوتروویستی بر توانایی سریع در ارائه خدمات بهداشتی- درمانی است آگاهی از نوع و نحوه حمله بیولوژیک امکان مقابله با آن را فراهم می‌نماید. از این رو تهیه برنامه‌های جامعی که در شرایط مختلف قادر به پاسخ‌گویی باشد و بتواند بحران را مهار کند بسیار حائز اهمیت است. لذا مهم‌ترین اقداماتی که برای دفاع در برابر عوامل بیولوژیک می‌توان انجام داد شامل: تشخیص سریع حمله بیولوژیک و شناسایی عامل به کار رفته می‌باشد. تشخیص اولیه وقوع حمله بیوتروویستی آسان نیست زیرا عوامل بیولوژیک بر خلاف عوامل شیمیایی فاقد رنگ، بو و مشخصات ظاهری قابل تشخیص می‌باشند. به طوری که افراد متوجه آلودگی نمی‌شوند و گسترش بیماری و قدرت انتشار آن به حدی سریع است که فرصت تشخیص برای کسی باقی نمی‌ماند در صورتی که امکان تشخیص سریع و به موقع حملات بیولوژیک یا بیوتروویستی وجود داشته باشد با طراحی روش مناسب درمانی می‌توان از شیوع بیماری عفونی جلوگیری کرد. برخی از دانشمندان عقیده دارند در حال حاضر امکان مهار حملات بیولوژیک یا بیوتروویستی وجود ندارد و این حملات می‌تواند بسیار زیان بار باشد با این همه تقریباً تمامی کشورهای جهان به نوعی در حال کسب آمادگی برای مقابله با حملات بیولوژیکی شده‌اند و برخی از کشورها لیست کامل از عوامل بیولوژیک را

تهیه و برای مقابله با آن‌ها برنامه ریزی کرده‌اند (۹-۶). اولین برنامه برای کسب آمادگی مقابله با سلاح‌های بیولوژیک تهیه واکسن مؤثر و ذخیره آنتی‌بیوتیک علیه آن‌ها می‌باشد. به دلیل ریشه کنی آبله و قطع عمل واکسیناسیون از اواخر دهه ۱۹۸۰ در دنیا و عدم ایمنی افراد بر علیه این بیماری (۲۸) و هم‌چنین عدم ذخیره کافی میزان واکسن مناسب در اغلب کشورها، در صورت شیوع آبله و بروز آن، می‌تواند باعث مرگ و میر بالایی در جامعه شود (۲۳). در حال حاضر نیمی از جمعیت دنیا به دلیل عدم واکسیناسیون از سال ۱۹۸۰ بر علیه بیماری آبله ایمن نیستند (۲۶). واکسیناسیون باعث ایجاد ایمنی در افراد می‌گردد ولی به دلیل عوارض واکسن (۶۷، ۶۸) و احتمال پدید آمدن ویروس‌های جدید با استفاده از مهندسی ژنتیک، نیاز به طراحی واکسن‌های جدید با پوشش ایمنی مناسب و عوارض جانبی کم‌تر می‌باشد (۶۹). واکسیناسیون بر علیه بیماری آبله با استفاده از واکسن زنده واکسینا به دلیل: پایداری واکسن در برابر حرارت در مقایسه با سایر واکسن‌های زنده، توانایی ایجاد ایمنی بالا و پایدار، تهیه و تکثیر آسان آن و عدم ادغام آن به ژنوم میزبان به دلیل تکثیر در سیتوپلاسم سلول، بسیار موفقیت آمیز بوده است (۷۰). در اثر واکسیناسیون و ایمن سازی افراد در برابر آبله، شیوع بیماری در جامعه کنترل شده و در صورت استفاده احتمالی از ویروس آبله به عنوان سلاح بیولوژیک باعث ایجاد نگرانی نمی‌گردد (۴۱). در دهه گذشته به دلیل احتمال استفاده از ویروس آبله به عنوان سلاح بیولوژیکی توسط بیوتروویست‌ها، ساخت واکسن به عنوان عامل دفاعی بر علیه این بیماری و برنامه‌ریزی جهت کنترل شیوع آن در دستور کار برخی از دولت‌ها قرار گرفت (۷۱). توصیه می‌گردد برنامه‌ریزی لازم جهت تهیه واکسن لازم و مناسب بر علیه آبله و ذخیره آن توسط دولت‌ها انجام گیرد تا در صورت استفاده احتمالی از ویروس آبله به عنوان سلاح بیولوژیک و یا بروز بیماری، جهت ایجاد ایمنی در افراد استفاده گردد.

انجام دهد جهت آگاهی کادر درمانی - بهداشتی و کنترل بیماری ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر حاصل پایان‌نامه آقای محمد رضا رهنمون جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد می‌باشد. از همه کسانی که در انجام این کار ما را مورد حمایت و راهنمایی خود قرار داده اند کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

در صورت بروز بیماری در جامعه، عمل واکسیناسیون بایستی بلافاصله ابتدا در مناطق پرخطر و سپس در کل جامعه انجام گیرد. افرادی که قبلاً بر علیه آبله واکسینه شده اند به دلیل تیتراژ آنتی بادی مناسب، عمل واکسیناسیون در آنها ضروری نمی‌باشد ولی در افرادی که بر علیه آبله واکسینه نشده اند به دلیل عدم وجود آنتی بادی عمل واکسیناسیون در آنها ضروری می‌باشد. هم‌چنین در صورت وقوع بیماری آبله، ایجاد یک شبکه سراسری که اطلاع رسانی دقیق و به موقع را

References

1. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Bioterrorism Overview. 2008 retrieved 2009-05-22. Available from: <http://emergency.cdc.gov/bioterrorism/overview.asp>. Accessed May 22, 2013.
2. Bioterrorism, Wikipedia, encyclopedia. 2013; Available from: <http://en.wikipedia.org/wiki/bioterrorism>. Accessed May 22, 2013.
3. Henderson DA, Inglesby TV, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, Jahrling PB, et al. Smallpox as a biological weapon: medical and public health management. Working Group on Civilian Biodefense. JAMA 1999; 281(22): 2127-2137.
4. Henderson DA. The looming threat of bioterrorism. Science 1999; 283(5406): 1279-1282.
5. Danzig R, Berkowsky PB. Why should we be concerned about biological warfare? JAMA 1997; 278(5): 431-432.
6. CDC (Centers for disease control & prevention) Smallpox. 2011. Available from <http://www.bt.cdc.gov/agent/smallpox>. Accessed January 22, 2013.
7. CDC (Centers for disease control & prevention). Botulism. 2006. Available from: (<http://www.bt.cdc.gov/agent/botulism>). Accessed March 22, 2013.
8. CDC (Centers for disease control & prevention) Plague Information. 2012. Available from: <http://www.bt.cdc.gov/agent/plague>. Accessed March 22, 2013.
9. CDC (Centers for disease control & prevention). Viral Hemorrhagic Fevers. 2005. Available from: <http://www.bt.cdc.gov/agent/vhf>. Accessed January 22, 2013.
10. Trevisanato SI. Did an epidemic of tularemia in Ancient Egypt affect the course of world history? Med Hypotheses 2004; 63(5): 905-910.
11. Trevisanato SI. The 'Hittite plague', an epidemic of tularemia and the first record of biological warfare. Med Hypotheses 2007; 69(6): 1371-1374.
12. Trevisanato SI. The biblical plague of the Philistines now has a name, tularemia Med Hypotheses 2007; 69(5): 1144-1146.
13. Mayor A. Greek Fire, Poison Arrows, and Scorpion Bombs: Biological and Chemical Warfare in the Ancient World. Overlook 2008, Available from: www.stanford.edu/dept/HPS/GreekFire. Accessed January 22, 2013.
14. History of biological warfare-Wikipedia, encyclopedia. http://en.wikipedia.org/wiki/Biological_warfare. Accessed January 22, 2013.
15. Wheelis M. Biological Warfare at the 1346

- Siege of Caffa. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(9): 971-975.
16. Hooker M. Biological Warfare, Emedicine Health. Available from: http://www.emedicineinhealth.com/biological_warfare/article_em.htm. Accessed January 22, 2013.
 17. Anderson F, Crucible of War: Crucible of War: The Seven Years' War and the Fate of Empire in British North America, 1754-1766. New York: Vintage; 2001: 541-542.
 18. B-Jennings F. Empire of Fortune, Crowns: Colonies and Tribes in the Seven Years War in America. 1st ed. New York: W W Norton Company; 1988.
 19. Barenblatt D. A Plague upon Humanity: The Secret Genocide of Axis Japan's Germ Warfare Operation. 1st ed. New York City: Harper Collins; 2004.
 20. Typhoid-Biological Weapons. 2011. Available <http://www.globalsecurity.org/wmd/intro.bio-typhoid.htm>. Accessed January 22, 2013.
 21. Martin D. Southern African News Feature: the plague wars. 2001. Available from: (<http://www.sardc.net/editorial/sanf/2001/iss21/specialreport.html>). Accessed January 22, 2013.
 22. Endicott S, Hagerman E. The United States and Biological Warfare: Secrets from the Early Cold War and Korea. First chapter, USA: Indiana University Press; 1998.
 23. Kerr PK. Nuclear, Biological, and Chemical Weapons and Missiles: Status and Trends. CSR Report for Congress; 2008, Feb 20. USA. Retrieved 10 August 2012.
 24. Bourzac K. Smallpox: Historical Review of a Potential Bioterrorist Tool. *Journal of Young Investigators* 2002; 6(3): 1-9.
 25. Ohnesorge FM, Horber JK, Haberle W, Czerny CP, Smith DP, Binnig G. AFM Review Study on PoxViruses and Living Cells. *Biophys J* 1997; 73(4): 2183-2194.
 26. Tognotti E. The eradication of smallpox, a success story for modern medicine and public health: What lessons for the future? *J Infect Dev Ctries* 2010; 4(5): 264-266.
 27. Singh RK, Balamurugan V, Bhanuprakash V, Venkatesan G, Hosamani M. Emergence and reemergence of vaccinia-like viruses: global scenario and perspectives. *Indian J Virol* 2012; 23(1): 1-11.
 28. Donald G, McNeil Jr. Wary of Attack With Smallpox, U.S. Buys Up a Costly Drug. U.S. Stockpiles Smallpox Drug in Case of Bioterror Attack-NYTimes. March 12, 2013. Available from: www.nytimes.com/2013/.../us-stockpiles-smallpox-drug-in-case-of-bioterror-attack.html? Accessed Jun 22, 2013.
 29. Henderson DA. The looming threat of bioterrorism. *Science* 1999; 283(5406): 1279-1282.
 30. Nettleman MD, Davis CP. How is smallpox diagnosed? 2013. *Medicine Net*. Available from: www.medicinenet.com/smallpox/page3.htm. Accessed January 22, 2013.
 31. Hull HF, Danila R, Ehresmann K. Smallpox and bioterrorism: Public-health responses. (Review article) *J Lab Clin Med* 2003; 142(4): 221-228.
 32. World Health Organization. The Eradication of Smallpox: Final Report of the Global Commission for the Certification of Smallpox Eradication, Geneva, December 1979. Geneva: World Health Organisation; 1980. p. 11-57.
 33. Breman JG, Henderson. Diagnosis and Management of Smallpox. Review Article. *N Engl J Med* 2002; 346(17): 1300-1308.
 34. Fenner F, Henderson DA, Arita I, Jezek Z, Ladnyi ID. Smallpox and its eradication. Geneva: WHO, 1988. Available at: <http://www.who.int/emc/diseases/smallpox/Smallpoxeradication.html>.) Accessed April 5, 2002.

35. Breman JG, Arita I. The confirmation and maintenance of smallpox eradication. *N Engl J Med* 1980; 303(22): 1263-1273.
36. Breman JG. Monkeypox: an emerging infection for humans? In: Scheld WM, Craig WA, Hughes JM, (eds). *Emerging infections 4*. Washington DC: ASM Press; 2000. p. 45-68.
37. Jezek Z, Szczeniowski M, Paluku KM, Mutombo M, Grab B. Human monkeypox: confusion with chickenpox. *Acta Trop* 1988; 45(4): 297-307.
38. Kretzschmar M, van den Hof S, Wallinga J, van Wijngaarden G. Ring Vaccination and Smallpox Control. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(5): 832-841.
39. Mack TM, Noble J Jr, Thomas DB. A prospective study of serum antibody and protection against smallpox. *Am J Trop Med Hyg* 1972; 21(2): 214-218.
40. Sarkar JK, Mitra AC, Mukherjee MK. The minimum protective level of antibodies in smallpox. *Bull World Health Organ* 1975; 52(3): 307-311.
41. Hammarlund E, Lewis MW, Hansen SG, Strelow LI, Nelson JA, Sexton GJ, et al. Duration of antiviral immunity after smallpox vaccination. *Nat Med* 2003; 9(9): 1131-1137.
42. Ferrier-Rembert A, Drillien R, Tournier JN, Garin D, Crance JM. Short- and long-term immunogenicity and protection induced by non-replicating smallpox vaccine candidates in mice and comparison with the traditional 1st generation vaccine. *Vaccine* 2008; 26(14): 1794-1804.
43. Taub DD, Ershler WB, Janowski M, Artz A, Key ML, McKelvey J, et al. Immunity from Smallpox Vaccine Persists for Decades: a longitudinal study. *Am J Med* 2008; 121(12): 1058-1064.
44. Lane JM, Ruben FL, Abrutyn E, Millar JD. Deaths attributable to smallpox vaccination, 1959 to 1966, and 1968. *JAMA* 1970; 212(3): 441-444.
45. Halsell JS, Riddle JR, Atwood JE, Gardner P, Shope R, Poland GA, et al. Myopericarditis following smallpox vaccination among vaccinia-naive US military personnel. *JAMA* 2003; 289(24): 3283-3289.
46. Fulginiti VA, Papier A, Lane JM, Neff JM, Henderson DA. Smallpox vaccination: a review, Part II. Adverse events. *Clin Infect Dis* 2003; 37(2): 251-271.
47. Arita I. Smallpox vaccine and its stockpile in 2005. *Lancet Infect Dis* 2005; 5(10): 647-652.
48. Rosenthal SR, Merchlinsky M, Kleppinger C, Goldenthal KL. Developing new smallpox vaccines. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(6): 920-926.
49. Marriott KA, Parkinson CV, Morefield SI, Davenport R, Nichols R, Monath TP. Clonal vaccinia virus grown in cell culture fully protects monkeys from lethal monkeypox challenge. *Vaccine* 2008; 26(4): 581-588.
50. Monath TP, Caldwell JR, Mundt W, Fusco J, Johnson CS, Buller M, et al. ACAM2000 clonal Vero cell culture vaccinia virus (New York City Board of Health strain) - a second-generation smallpox vaccine for biological defense. *Int J Infect Dis* 2004; 8(Suppl 2): 31-44.
51. Osborne JD, Da Silva M, Frace AM, Sammons SA, Olsen-Rasmussen M, Upton C, et al. Genomic differences of Vaccinia virus clones from Dryvax smallpox vaccine: the Dryvax-like ACAM2000 and the mouse neurovirulent Clone-3. *Vaccine* 2007; 25(52): 8807-8832.
52. Artenstein AW, Johnson C, Marbury TC, Morrison D, Blum PS, Kemp T, et al. A novel, cell culture-derived smallpox vaccine in vaccinia-naive adults. *Vaccine* 2005; 23(25): 3301-3309.

53. Greenberg RN, Kennedy JS. ACAM2000: a newly licensed cell culture-based live vaccinia smallpox vaccine. *Expert Opin Investig Drugs* 2008; 17(4): 555-564.
54. Henderson DA. Smallpox Virus Destruction and the Implications of a New Vaccine. *Biosecur Bioterror* 2011; 9(2): 163-168.
55. Artenstein AW, Grabenstein JD. Smallpox vaccines for biodefense: need and feasibility. *Expert Rev Vaccines* 2008; 7(8): 1225-1237.
56. Hopkins RJ, Lane JM. Clinical efficacy of intramuscular vaccinia immune globulin: a literature review. *Clin Infect Dis* 2004; 39(6): 819-826.
57. Casadevall A. Passive antibody administration (immediate immunity) as a specific defense against biological weapons. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(8): 833-841.
58. Bray M, Martinez M, Smee DF, Kefauver D, Thompson E, Huggins JW. Cidofovir protects mice against lethal aerosol or intranasal cowpox virus challenge. *J Infect Dis* Jan 2000; 181(1): 10-19.
59. Smee DF, Wong MH, Bailey KW, Sidwell RW. Effects of cidofovir on the pathogenesis of a lethal vaccinia virus respiratory infection in mice. *Antiviral Res* 2001; 52(1): 55-62.
60. De Clercq E. Cidofovir in the therapy and short-term prophylaxis of poxvirus infections. *Trends PharmacolSci* 2002; 23(10): 456-458.
61. Ajayi T. Smallpox and Bioterrorism. *Stanford Journal of International Relation (SJIR)* 2002; 3(2). [7 screen]. Available from: stanford.edu/group/sjir/3.2.02_ajayi.html. Accessed March 22, 2013.
62. CDC (Centers for Disease Control and Prevention) Smallpox Case Definitions. December 31, 2003. [2 screen]. Available from www.bt.cdc.gov/agent/smallpox/diagnosis/ca_sedefinition.asp. Accessed January 22, 2013.
63. ODH (Ohio Department of Health) ODH-IDCM INTRO Page 1-4/Section 3. Available from: www.odh.ohio.gov/pdf/idcm/intro1.pdf. Accessed July 7, 2011.
64. Public Health Surveillance for Smallpox --- United States, 2003-2005. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2006; 55(49): 1325-1327.
65. Boyd DA, Sperling LC, Norton SA. Eczema Herpeticum and Clinical Criteria for Investigating Smallpox. *Emerg Infect Dis* 2009; 15(7): 1102-1104.
66. Henderson DA. The looming threat of bioterrorism. *Science* 1999; 283(5406): 1279-1282.
67. Henderson DA, Inglesby TV, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, Jahrling PB, et al. Smallpox as a biological weapon: Medical and public health management. Working Group on Civilian Biodefense. *JAMA* 1999; 281(22): 2127-2137.
68. Lane JM, Ruben FL, Neff JM, Millar JD. Complications of smallpox vaccinations in 1968: results of ten statewide surveys. *J Infect Dis* 1970; 122: 303-309.
69. CDC (Centers for Disease Control and Prevention) Update: Adverse events following smallpox vaccination---United States, 2003. *Morb Mortal Wkly Rep (MMWR)* 2003; 52(3): 278-284.
70. Bradbury J. USA to increase smallpox vaccine stockpile. *Lancet Infect Dis* 2001; 1(5): 290-291.
71. Verardi PH, Titong A, Hagen CJ. A vaccinia virus renaissance New vaccine and immunotherapeutic uses after smallpox eradication. *Hum Vaccin Immunother* 2012; 8(7): 961-670.