

گزارش بروز سیاه زخم جلدی در دو چوپان در شهرستان ورامین استان تهران

حسین اسماعیلی*^۱، مونا حامدی^۲، فاطمه هاشمی حقیقی^۲، علی خنجری^۴، سیاوش ذوالنوری^۵ و عرفان حسن زاده^۵

۱- دانشیار، گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران-ایران

۲- دکتری تخصصی باکتری شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران-ایران

۳- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج-ایران

۴- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران-ایران

۵- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران-ایران

*نشانی برای مکاتبه: hesmaeli@ut.ac.ir

چکیده

سابقه و هدف: سیاه زخم ناشی از باسیلوس آنتراسیس بین انسان، دام‌های اهلی و وحشی مشترک بوده و ابتلای انسان به دنبال تماس با حیوان آلوده یا محصولات حیوانات آلوده رخ می‌دهد. در انسان بیماری به سه شکل جلدی، گوارشی و تنفسی ممکن است رخ دهد. هدف از مطالعه حاضر توصیف مواردی از سیاه زخم انسانی به منظور تأکید بر اهمیت ارتقاء سطح آگاهی دامداران و رعایت اصول ایمنی در مواجهه با دام‌های بیمار است.

مواد و روش‌ها: در گله‌ای در منطقه ورامین شامل ۵۱۰ رأس گوسفند، تعداد ۵ رأس از دام‌ها به شکل حاد و فوق حاد تلف شدند. در این گله، در دو چوپان دو زخم با مرکز سیاه بر روی ساعد و انگشت ایجاد شد. پس از نمونه‌گیری از زخم‌ها، با استفاده از رنگ آمیزی گیمسا و روش PCR آلودگی به عامل سیاه زخم مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: هیچ کدام از دام‌های تلف شده و ذبح شده علامت خونریزی از منافذ طبیعی بدن را نشان نداده بودند. در رنگ آمیزی گیمسا باسیل‌های احاطه شده توسط کپسولی به رنگ متمایل به قرمز مشاهده گردید که آلودگی به باسیلوس آنتراسیس با آزمون مولکولی تأیید شد.

نتیجه‌گیری و پیشنهادات: با توجه به اینکه در حال حاضر واکسیناسیون شاربین تنها در مناطق پرخطر انجام می‌شود، لازم است دامداران بوسیله آموزش‌های کارآمد، به اهمیت سیاه زخم و تشابه آن با بیماری بسیار معمول انتروتوکسمی آگاه شوند.

کلمات کلیدی: آنتروتوکسمی، سیاه زخم، شاربین، بیماری‌های مشترک، گوسفند، بز.

مقدمه

بیماری سیاه زخم یا شاربین ناشی از باسیلوس آنتراسیس است که یک باکتری گرم مثبت، غیر متحرک و تشکیل دهنده اسپور می‌باشد. این بیماری بین انسان، دام‌های اهلی و وحشی مشترک بوده و ابتلای انسان به دنبال تماس با حیوان آلوده یا محصولات حیوانات آلوده رخ می‌دهد (۱)، اما به شکل نادر بیماری از طریق حشرات نیز می‌تواند منتقل شود (۲). سیاه زخم از انسان به انسان سرایت پیدا نمی‌کند، بنابراین، برقراری چرخه بیماری نیاز به حضور اسپور مقاوم باکتری بر روی علوفه و میزبان علفخواری که از آن علوفه استفاده کرده است دارد. اسپور باسیلوس آنتراسیس در شرایط محیطی مناسب ممکن است ده‌ها سال در خاک باقی بماند (۳). در اغلب موارد، بیماری در دام رخ می‌دهد که گاهی در اثر تماس نزدیک، به انسان نیز منتقل می‌شود (۱، ۴). به همین دلیل، روش پرورش دام نقش مهمی در انتقال سیاه زخم از حیوان به انسان دارد (۴). مستعدترین حیوانات به بیماری شامل گاو، اسب، گوسفند، بز و خوک است (۵، ۶) که در این حیوانات به شکل سپتی سمی و مرگ ناگهانی بروز پیدا می‌کند. امکان دارد از منافذ بدن حیوان تلف شده خون خارج شده و همچنین خونریزی زیر جلدی مشاهده گردد (۷).

بیماری سیاه زخم یا شاربین ناشی از باسیلوس آنتراسیس است که یک باکتری گرم مثبت، غیر متحرک و تشکیل دهنده اسپور می‌باشد. این بیماری بین انسان، دام‌های اهلی و وحشی مشترک بوده و ابتلای انسان به دنبال تماس با حیوان آلوده یا محصولات حیوانات آلوده رخ می‌دهد (۱)، اما به شکل نادر بیماری از طریق حشرات نیز می‌تواند منتقل شود (۲). سیاه زخم از انسان به انسان سرایت پیدا نمی‌کند، بنابراین، برقراری چرخه بیماری نیاز به حضور اسپور مقاوم باکتری بر روی علوفه و میزبان علفخواری که از آن علوفه استفاده کرده است دارد. اسپور باسیلوس آنتراسیس در شرایط محیطی مناسب ممکن است ده‌ها سال در خاک باقی بماند (۳). در اغلب موارد، بیماری در دام رخ می‌دهد که گاهی در اثر تماس نزدیک، به انسان نیز منتقل می‌شود (۱، ۴). به همین دلیل، روش پرورش دام نقش مهمی در انتقال سیاه زخم از حیوان به انسان دارد (۴). مستعدترین حیوانات به بیماری شامل گاو، اسب، گوسفند، بز و خوک است (۵، ۶) که در این حیوانات به شکل سپتی سمی و مرگ ناگهانی بروز پیدا می‌کند. امکان دارد از منافذ بدن حیوان تلف شده خون خارج شده و همچنین خونریزی زیر جلدی مشاهده گردد (۷).

همه گیری آنتراکس در بسیاری از نقاط دنیا گزارش شده است که البته شیوع آن در کشورهای مختلف متفاوت است. تخمین زده می شود که هر ساله بین ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۰۰ مورد از بیماری در جهان رخ می دهد (۱۶، ۱۷). بزرگترین همه گیری آنتراکس کشاورزی در کشور زیمبابوه در خلال سال های ۱۹۷۹ تا ۱۹۸۵ میلادی رخ داد که بیش از ۱۰ هزار مورد به شکل جلدی و گوارشی مبتلا شده بودند. در این همه گیری، اغلب بیماران به شکل جلدی درگیر شدند (۱۸). شکل گوارشی بیماری در منطقه جنوب هند اندمیک است (۱۹). در ایران خوشبختانه این بیماری از بدو تأسیس سازمان دامپزشکی کشور، در جمعیت دامی ایران شناخته شده و در اثر واکسیناسیون مرتب سالیانه، در حال حاضر میزان اشاعه آن کاهش یافته است (۲، ۱۶، ۱۷). با این حال، از آنجا که همچنان از اشکال گوارشی و پوستی گزارش هایی در شهرهای مختلف وجود دارد (۲۰) و ابتلا به شکل گوارشی و تنفسی می تواند مرگبار باشد، هدف از گزارش حاضر توصیف مواردی از سیاه زخم انسانی به منظور تأکید بر نیاز به ارتقاء سطح آگاهی دامداران نسبت به بیماری و رعایت اصول ایمنی در مواجهه با دام های بیمار است.

مواد روش کار:

شرح گزارش:

در سال ۱۳۹۲ شمسی، گله ای در منطقه ورامین شامل ۵۱۰ رأس گوسفند نژاد زندی، افشاری و شال و همچنین ۹۶ بز دورگه بیتال، تعداد ۵ رأس از دام ها به شکل حاد و فوق حاد تلف شدند و ۲ رأس گوسفند که دچار تشنج شده بودند، توسط چوپان ها به شکل اضطراری ذبح شدند. چوپانان گله که به بیماری آنروتوکسمی مظنون بودند، دام ها را پوست کنی و قطعه قطعه کردند. در این گله هیچ یک از واکسن های شاربن و آنروتوکسمی تزریق نشده بود. در دو چوپان گله هر دو مذکر با سنین ۵۳ و ۳۷ ساله، دو زخم با مرکز سیاه بر روی ساعد و انگشت ایجاد شد (تصاویر ۱-۲). قبل از تشخیص بیماری، چوپانان با استفاده روزانه از آبلیمو و سرکه سعی در مداوای زخم ها داشتند.

عفونت سیاه زخم انسانی یا آنتراکس به دو دسته کشاورزی و صنعتی تقسیم بندی شده است. انسان ممکن است در حین ذبح دام آلوده، به بیماری مبتلا شود (شکل کشاورزی) و یا اینکه در اثر تمیز کردن یا فرآوری محصولات دامی مانند گوشت، مو، پشم، چرم و پوست (شکل صنعتی) درگیر شود (۸). شکل کشاورزی معمولاً در میان دامداران، قصابان و دامپزشکان رایج است و شکل صنعتی اغلب در افرادی که با صنایع فرآوری کننده محصولات دامی سر و کار دارند مشاهده می گردد (۱).

بر اساس علائم بالینی و راه انتقال، آنتراکس در انسان به سه شکل جلدی (که ۹۵ درصد موارد درگیری انسان در جهان را تشکیل می دهد)، گوارشی و ریوی می تواند رخ دهد (۹). شکل تنفسی، بسیار نادر اما کشنده ترین شکل بیماری بوده و از این راه انتقال باکتری، بعنوان بیوتروریسم استفاده می شود (۱۰). شکل گوارشی در صورت عدم انجام اقدامات درمانی، محتمل ترین عامل مرگ و میر در انسان در رتبه بعد از شکل تنفسی قرار می گیرد. شکل گوارشی به دنبال مصرف گوشت خام یا نیم پز رخ می دهد و از جمله علائم رایج آن درد شکمی، آسیت و اسهال شدید است. با این حال، علائم بالینی بسته به میزان اسپور خورده شده ممکن است متفاوت باشد (۱۱). بر اساس گزارش حاتمی و منصوری در سال ۱۳۸۸ در استان کرمانشاه، در دو مورد ارجاعی سیاه زخم گوارشی، علامت رایج آسیت بوده و علی رغم تجویز پنی سیلین هیچ یک از بیماران نجات پیدا نکردند (۱۲). شکل پوستی، کم خطرترین نوع بیماری در انسان محسوب می شود (۱، ۳) که علائم آن خارش و زخم روی پوست است. این جراحات معمولاً ۱ تا ۷ روز پس از آلودگی بوجود می آیند (۱۳). ضایعات سیاه زخم پوستی بیشتر در ناحیه سر، گردن، ساعد و دست مشاهده می شود. در این شکل میزان مرگ و میر معمولاً زیر ۱٪ است، اما اگر درمان نشود، این میزان می تواند به ۲۰٪ برسد (۱۴، ۱۵).



تصویر ۱- ضایعات سیاه زخم جلدی بر روی ساعد چوپان



تصویر ۲- ضایعات سیاه زخم جلدی بر روی انگشت چوپان

نمونه گیری از زخم‌ها:

بعد از مشاهده زخم های سیاه رنگ بر روی دست چوپان ها، از زخم‌ها با بلند کردن دقیق لبه بیرونی اسکار نمونه برداری شد. به این شکل که سواب استریل به آرامی به مدت ۲ تا ۳ ثانیه در زیر لبه اسکار چرخانده و به این ترتیب نمونه گیری انجام شد.

رنگ آمیزی گیمسا:

ابتدا بر روی لام از سواب‌های آغشته به نمونه، گسترش تهیه شد و با استفاده از رنگ گیمسا رنگ آمیزی شدند. به این شکل که ابتدا گسترش‌ها بلافاصله پس از تهیه در متانول تثبیت شدند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در ظرف حاوی رنگ گیمسا قرار گرفتند. گسترش‌ها پس از خروج از رنگ گیمسا با فشار ملایم آب شیر شسته و پس از خشک شدن با بزرگنمایی $1000\times$ میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمون زنجیره‌ای پلیمرز (PCR):

نمونه‌های سواب با استفاده از کیت استخراج DNA (*CinnaGen DNA extraction kit*) استخراج و سپس آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد (۲۱).

توالی پرایمرهای مورد استفاده با وزن $596 bp$ به ترتیب زیر بود:

پرایمر *Forward*: *TCC-TAA-CAC-TAA-CGA-AGT- CG*

پرایمر *Reverse*: *GAG-GTA-GAA-GGA-TAT-ACG- GT*

آزمون PCR با استفاده از ۱ میلی مولار از پرایمرهای فوق، ۲۰۰ میکرومولار از هر یک از *dGTP* و *dTTP* *dCTP* *dATP* مقدار ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$ و ۲/۵ واحد *Taq DNA polymerase* و در نهایت ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده انجام شد. با استفاده از بافر *NH4* حجم نهایی به ۵۰ میکرولیتر رسانده شد. تکثیر DNA در دستگاه ترموسایکلر انجام شد و برنامه دمایی اجرا شده به این ترتیب بود: واسرشت سازی^۱ در

دمای $95^{\circ}C$ ، به مدت ۱ دقیقه، به دنبال آن ۳۰ چرخه شامل $95^{\circ}C$ برای ۳۰ ثانیه، $55^{\circ}C$ برای ۳۰ ثانیه، و $72^{\circ}C$ برای ۳۰

ثانیه. در نهایت مرحله بسط نهایی^۲ در دمای $72^{\circ}C$ برای ۵ دقیقه انجام شد. محصولات PCR با استفاده از ۱۰ میکرولیتر *safe stain* و بافر *Tris Borate EDTA* بعنوان ماتریکس در ژل آگارز ۲ درصد برای ۱ ساعت و ولتاژ ۹۰ ولت الکتروفورز شدند. در نهایت برای مشاهده باندهای بدست آمده از دستگاه UV استفاده و عکس برداری صورت گرفت.

نتایج

هیچ کدام از دام های تلف شده و ذبح شده علامت خونریزی از منافذ طبیعی بدن را نشان نداده بودند و تنها علایم کلی یک بیماری فوق حاد نظیر تشنج، تب بالا و حدود ۴۱ درجه و مرگ ناگهانی را نشان داده بودند. در پوست کنی لاشه ها نیز به گفته دامداران تنها علائم سپتی سمی نظیر پرخونی اندام های داخلی مشاهده شده است که ظن دامداران به بیماری انتروتوکسمی را برانگیخته است.

زخم‌ها بر روی انگشت و ساعد چوپانان پس از تماس با دام‌ها ایجاد شد که به تدریج مرکز آن سیاه رنگ شده و به غیر از خارش علامت دیگری مشاهده نگردید. حال عمومی چوپان ها مساعد بود و هیچ گزارشی از علائم غیر طبیعی در آنها وجود نداشت.

در رنگ آمیزی گیمسا باسیل‌های با انتهای گرد با آرایش تکی یا دوتایی که توسط کپسولی به رنگ متمایل به قرمز احاطه شده بودند مشاهده گردید که به دلیل داشتن شباهت به عامل بیماری سیاه زخم، توسط آزمون PCR مورد تأیید قرار گرفتند. در آزمون مولکولی انجام شده بر روی نمونه‌های اخذ شده از هر دو فرد مشکوک، باند $596 bp$ متعلق به باکتری *باسیلوس آنتراسیس* مشاهده گردید.

بحث:

در بررسی حاضر، نمونه‌های مشکوک به سیاه زخم متعلق به دو فرد با سابقه تماس با دامی‌هایی که به شکل ناگهانی تلف شدند بود. ابتلای هر دو مورد به بیماری با استفاده از آزمون PCR که از روش‌های دقیق تشخیص بیماری هستند تأیید شد (۲۲). منظور از

^۲ Final extension^۱ Denaturation

بختیاری بودند (۱۶). بر اساس گزارش منتشر شده از سوی مرکز کنترل بیماری های وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی کشور، ۲۰۷ مورد سیاه زخم انسانی در سال ۱۳۹۱ گزارش شد که در استان های خراسان و آذربایجان شرقی مشاهده گردید (۲۸). در حال حاضر، استان های کردستان، آذربایجان غربی، تهران و زنجان به ترتیب با ۳۷/۱۶، ۳۳/۸۳، ۱۶/۷۸ و ۱۰/۴۹ درصد از مساحت خود، پرخطرترین مناطق سیاه زخم در ایران محسوب می شوند (۱۶).

با تمام این اوصاف، بیماری در کشور رو به کاهش است و افزایش پوشش واکسیناسیون دامی، ارتقاء آگاهی دامداران و بهبود کیفیت مبارزه با بیماری، از عوامل تأثیرگذار در کاهش سیاه زخم انسانی می باشند. در مطالعه حاضر عدم آگاهی دو فرد درگیر نسبت به اشکال مختلف بیماری سیاه زخم و عدم گزارش تلفات به مراکز دامپزشکی، باعث شده بود که علت تلفات ناگهانی، بیماری آنترتوکسمی تلقی شود و لاشه ها ذبح شده و مورد استفاده قرار گیرند. از آنجا که بیماری شاربن در گوسفند و بز همیشه باعث ایجاد خونریزی از منافذ بدن نمی شود و در علفخواران، ماهیت حاد و فوق حاد دارد، در برخی مواقع دامداران به اشتباه، آن را آنترتوکسمی تلقی می کنند که یک بیماری معمول در گله های گوسفند است. این تشابه زیاد در شکل غیر معمول باعث بروز فرم های جلدی سیاه زخم در قصابان و دامداران می شود (۲).

خوشبختانه در این مطالعه با وجود مصرف گوشت دام های آلوده، علامتی از شکل گوارشی بیماری مشاهده نشد. اشکال رویشی *باسیلوس آنتراسیس* به راحتی با پختن کامل گوشت از بین می روند، اما از آنجا که اسپورها در برابر شرایط نامطلوب بسیار مقاوم تر هستند، برای غیرفعال شدن نیاز دارند حداقل به مدت ۱۵ دقیقه در حرارت ۱۰۰ درجه سانتی گراد پخته شوند (۲۹). موارد نادری از شکل گوارشی در برخی از نقاط ایران گزارش شده است، اما از سال ۲۰۱۶ موردی از شکل تنفسی رخ نداده است (۳۰). با این وجود، تشخیص هر موردی از بیماری حتی اگر شکل کم خطر جلدی باشد، برای سیستم های بهداشتی هشدار دهنده است و اقدامات پیشگیرانه نباید نادیده گرفته شوند.

تماس با دام آلوده شامل باز کردن لاشه، کندن پوست، ذبح، حمل گوشت و تمیز کردن لاشه آن ها است. این فعالیت ها عمدتاً نقش های مردانه هستند که توضیح می دهد چرا مردان معمولاً بیشتر درگیر بیماری سیاه زخم می شوند (۲۳). در مطالعه اسماعیلی و همکاران در سال ۱۳۸۹ نیز بیشتر افراد مبتلا به سیاه زخم را مردان بواسطه شغلشان تشکیل می دادند (۶۱٪) (۲). در گزارش مشابهی در سال ۲۰۱۴ میلادی در کشور ترکیه، مرد ۵۵ ساله ای با شکایت از جراحی کورک مانند با علامت خارش همراه با درد خفیف و تورم در ساعد و دست گزارش شد که مشخص گردید این فرد از طریق تماس مستقیم با لاشه حیوان آلوده به سیاه زخم جلدی مبتلا شده است (۲۴).

بروز موارد انسانی سیاه زخم اغلب در مناطق روستایی و در مناطقی که جمعیت زیادی از دام ها نگهداری می شوند مشاهده می گردد (۴). ورامین نیز در استان تهران مهمترین منطقه پرورش دام است که وجود جمعیت دامی در معرض بیماری، به معنای در خطر بودن جمعیت انسانی در مواجهه با آن ها می باشد. علاوه بر این، در شهرستان های کوچ پذیر همچون شهرستان های استان اصفهان، ورود دام های آلوده به این مناطق و حضور اسپور مقاوم عامل باکتری سیاه زخم که چندین سال می تواند در محیط باقی بماند، در انتشار و بروز بیماری در انسان نقش بسزایی دارد (۲۵). (۲۶). مناطق سردسیر و معتدل نیز مناطق مناسبی برای بقای اسپورهای مقاوم هستند و با توجه به رونق صنعت دامداری و کشاورزی و وجود جمعیت عشایری در چنین مناطقی، شرایط مناسبی برای انتقال اسپور به دام و در نهایت به انسان وجود دارد. عدم پوشش کافی واکسیناسیون بخصوص در مناطق پرخطر و مناطقی که دامپروران با گروه های واکسیناتور همکاری نمی کنند، ارتباط مستقیمی با شیوع سیاه زخم در انسان دارد (۲،۳). در سراسر جهان، حدود ۱/۸۳ میلیارد نفر در مناطق پرخطر سیاه زخم زندگی می کنند (۲۷). همچنین، حدود ۶۳/۸ میلیون دامپرور در سراسر جهان زندگی می کنند که در تماس با ۱/۱ میلیارد دام در معرض عفونت سیاه زخم قرار دارند (۳). پرخطرترین مناطق از لحاظ ابتلا به سیاه زخم در کشور ما در سال های ۹۴-۱۳۸۹ به ترتیب شامل استان های کردستان، خراسان شمالی و چهارمحال و

بیماری می‌باشد (۲۵). از دیگر مواردی که تأثیر واکسیناسیون را کم رنگ می‌نماید، مسئله ورود دام قاچاق به کشور است. از آنجا که دام‌هایی که به صورت قاچاق و خارج از نظارت سیستم دامپزشکی به منطقه حمل می‌شوند، فاقد هرگونه سابقه مشخصی از تزریق واکسن آنتراکس هستند، احتمال آن وجود دارد که دام‌های حساسی بوده و به محض ورود به منطقه آلوده، دچار بیماری شده باشند (۲۵).

نتیجه گیری:

با توجه به اینکه در حال حاضر واکسیناسیون شاربن در دام های کشور به شکل هدفمند و تنها در مناطق پرخطر انجام میشود، لازم است دامداران بوسیله آموزش های کارآمد، به اهمیت سیاه زخم و تشابه آن با بیماری بسیار معمول انتروتوکسمی آگاه شوند.

واکسیناسیون جمعیت دامی ایران از سال ۱۳۸۹ به شکل هدفمند انجام می‌شود به این معنی که اگر در منطقه‌ای طی مدت پنج سال هیچگونه گزارشی از شاربن در جمعیت انسانی، دام‌های اهلی و حیات وحش نداشته باشند، واکسیناسیون منظم سالانه قطع شده و تنها مراقبت بیماری در آن انجام می‌شود (۳۱). افزایش سطح خدمات بهداشتی و رفاهی و همچنین بروز کم شاربن دامی نیز باعث شده است تا بسیاری از دامداران این بیماری را فراموش کرده و اهمیت آن در بین آن‌ها کمرنگ شده است.

از جمله دستورالعمل‌های سیستم‌های بهداشتی کشورهای در معرض خطر آنتراکس، کشتار دام در کشتارگاه‌ها و تحت نظارت دامپزشک است. در کشور ما، یکی از تنگناها و مشکلات شیوه اجرایی و دستورالعمل کنترلی عدم امکان کنترل کیفی واکسن توسط سازمان دامپزشکی و ضعف در برقراری سیستم مراقبت از

REFERENCE

1. World Health Organization. Anthrax in humans and animals. 4th ed. Switzerland: Geneva; 2008. 208.
2. Esmaeili H, ZareiTousi A, Hamidyia Z, Alighazi N, Fatemi M. A report on the occurrence of cutaneous anthrax outbreak in the villages of Esfrain city, North Khorasan province. Iran J Infect Dis Trop Med. 2010 March; 15 (48): 23-28. (Full Text in Persian).
3. Carlson CJ, Kracalik IT, Ross N, Alexander KA, Hugh-Jones ME, Fegan M, et al. The global distribution of Bacillus anthracis and associated anthrax risk to humans, livestock and wildlife. Nat Microbiol. 2019 May ;4 (8):1337-43
4. Dutta PK, Biswas H, Uddin Ahmed J, Shakif Ul-Azam M, Mohammad Jafar Ahmmed B, Rani Day A. Knowledge, attitude and practices (KAP) towards anthrax among livestock farmers in selected rural areas of Bangladesh. Vet Med Sci. 2021 July; 7: 1648-55.
5. Karadas S, Aslan M, Ceylan MR, Sunnetcioglu M, Bozan N, Kara H, et al. Serum paraoxonas activity and oxidative stress levels in patients with cutaneous anthrax. Hum Exp Toxicol. 2017 July; 36 (7): 663-69.

6. Ghazvini K, Farsiani H, Ghavidel M, Karbalaei M, Babaki Z. Cutaneous anthrax in the northeast of Iran: A case report and review of the literature. *Rev Clin Med*. 2018 December; 5 (1): 26-28.
7. Sidwa T, Salzer JS, Traxler R, Swaney E, Sims ML, Bradshaw P, et al. Control and prevention of Anthrax, Texas, USA, 2019. *Emerg Infect Dis*. 2020 December; 26 (12): 2815-24.
8. Bischof TS, Hahn BL, Sohnle PG. Characteristics of spore germination in an mouse model of cutaneous anthrax. *J Infect Dis*. 2007 March; 195 (6), 888-94.
9. Hangombe MB, Mwansa JCL, Muwowo S, Mulenga Ph, Kapina M, Musenga E, et al. Human-animal anthrax outbreak in the Luangwa valley of Zambia in 2011. *Trop Doct*. 2012 April; 42 (3): 136-9.
10. Dawson P, Salzer J, Schrodt CA, Feldmann K, Kolton CB, Gee JE, et al. Epidemiologic investigation of two welder's anthrax cases caused by *Bacillus cereus* group bacteria: occupational link established by environmental detection. *Pathogens*. 2022 July; 11 (8): 1-15.
11. Kisaakye E, Ario AR, Bainomugisha K, Cossaboom CM, Lowe D, Bulage L, et al. outbreak of anthrax associated with handling and eating meat from a cow, Uganda, 2018. *Emerg Infect Dis*. 2020 December; 26 (12): 2799-2806.
12. Hatami H, Mansouri F. Report of two cases of gastrointestinal anthrax with unusual manifestations and review of medical literature. *J Ardab*. 2009 July; 9 (2): 140-9.
13. Heymann DL. *Control of Communicable Diseases Manual*. 20th ed. Washington; 2014
14. Hendricks K, Person KM, Bradley JS, Mongkolrattanothai T, Hupert N, Eichacker P, et al. Clinical features of patients hospitalized for all routes of anthrax, 1880-2018: A systematic review. *Clin Infect Dis*. 2022 October; 75 (3): S341-S353.
15. Ntono V, Eurien D, Bulage L, Kadobera D, Harris J, Riolexus Ario A. Cutaneous anthrax outbreak associated with handling dead animals, Rhino-Camp sub-county: Arua district, Uganda, January-May 2018. *One Health Outlook*. 2021 April; 3 (8): 1-7.
16. Amiri B, Ghaderi E, Mohamadi P, Shirzadi S, Afrasiabian Sh, Salimi Zand H. Geographical distribution of anthrax using geographic information system (GIS) during 2010-2015 in Iran. *Med J Islam Repub Iran*. 2021 March; 35 (36): 1-6.
17. Goel AK. Anthrax: a disease of biowarfare and public health importance. *World J Clin Cases*. 2015 January; 3 (1): 20.
18. Doganay M, Dinc G, Kutmanova A, Baillie L. Human anthrax: Update of diagnosis and treatment. *Diagnostics*. 2023 March; 13 (6): 1-13.
19. Iqbal N, Basheer A, Ramesh AN, Vimal J, Mookkappan S, Kanungo R. Gastrointestinal anthrax in coastal south India: a critical alert on fatal masquerader. *MicroSoc*. 2015 January; 2 (1): 1-4.
20. Jula GM, Sattari M, Banihashemi R, Razzaz H, Sanchouli A, Tadayon K. The phenotypic and genotypic characterization of *Bacillus anthracis* isolates from Iran. *Trop Anim Health Prod*. 2011 March; 43 (3): 699-704.
21. Beyer W., Glockner P., Otto J. & Bohm R. (1996). A nested PCR and DNA-amplification-fingerprinting method for detection and identification of *Bacillus anthracis* in soil samples from former tanneries. *Salisbury Med. Bull.*, No. 87, Special Suppl., 47-49.
22. OIE. *Manual of standards for diagnostic tests and vaccines*. 5th ed. France: OIE; 2004: Chapter 2.2.1, 283-294.

23. Kisaakye E, Ario AR, Bainomugisha K, Cossaboom CM, Lowe D, Bulage L, et al. Outbreak of anthrax associated with handling and eating meat from a cow, Uganda, 2018. *Emerg Infect Dis.* 2020 December; 26 (12): 2799.
24. Bal A, Gökdemir O. Anthrax: A Case Report. *J Pak Med Assoc.* 2014 October; 64: 1201-1202.
25. Esmaeili H, Moradi Garavand M, Hamed M, Gharib Mombeini M. Evaluation of national anthrax strategy in livestock in Iran. *J Vet Res.* 2017 May; 72 (3): 277-82. (Full Text in Persian).
26. Ramezani J, Najafabadi A, Hajari A, Fadaei Nobari R. An epidemiologic study of human anthrax in counties under the supervision of Isfahan university of medical sciences during 2012-2015. *Mil Caring Sci.* 2017 December; 4 (3): 178-186. (Full Text in Persian).
27. Ngetich W. Review of anthrax: A disease of animals and humans. *J Agric Environ Bio-Res.* 2019 Jun; 4 (10): 123–134.
28. Hatami H, Ramezan KA, Mansouri F. Two cases of gastrointestinal anthrax with an unusual presentation from Kermanshah (western Iran). *Arch Iran Med.* 2010 March; 13 (2): 156–159
29. Aceng FL, Ario AR, Alitubeera PH, Neckyon MM, Kadobera D, Sekamatte M, et al. Cutaneous anthrax associated with handling carcasses of animals that died suddenly of unknown cause: Arua district, Uganda, January 2015- August 2017. *PLOS Negl Trop Dis.* 2021 August; 15 (8): 1-12.
30. Ghasemian A, Nojoomi F, Rajabi Vardanjani H. The anthrax disease in Iran from 2000-2016: the predominance of cutaneous and gastrointestinal form. *Int J Enteric Pathog.* 2018 February; 6 (1): 10-13.
31. Moradi Gravand M, Gharib Mombeini M. Long Term Surveillance, Control and Prevention National Strategy of Anthrax Disease Based on Targeted Vaccination in Islamic Republic of Iran. 1st ed. Tehran: Iranian veterinary organization press; 2015.