بیماری شاربن علامتی و نقش موسسه رازی در کنترل و پیشگیری از آن در ایران

لیدا عبدالمحمدی خیاو[1]*

۱. محقق، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

نویسنده مسئول: لیدا عبدالمحمدی خیاو L.mohammadi@rvsri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۲۸-۱۱-۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۵-۰۱-۱۴۰۲

چکیده

شاربن علامتی یک بیماری هیستوتوکسیک کشنده است که دام‌های اهلی و حتی بعضی از گونه‌های حیوانات وحشی را درگیر می‌نماید. این بیماری آندمیک در سراسر جهان باعث خسارات مالی قابل توجهی به دامداران می‌شود. عامل این بیماری باکتری کلستریدیوم شووای می‌باشد. در موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی سابقه تحقیقات مربوط به تشخیص بیماری شاربن علامتی به سال ۱۳۱۵ باز می‌گردد که اولین سویه از کلستریدیوم شووای از گاو مبتلا به شاربن علامتی جدا گردید. مهم‌ترین اقدام جهت پیشگیری و کنترل بیماری واکسیناسیون می‌باشد. این واکسن در ایران توسط موسسه رازی بیش از ۸ دهه به صورت واکسن کشته تهیه و مورد استفاده قرار گرفته است. در حال حاضرسهم موسسه رازی از بازار این واکسن، حدود ۲/۵ میلیون دز در سال است که در کنار واکسن‌های مشابه وارداتی جهت واکسیناسیون دام‌ها به کارمی‌رود. تا قبل از تولید واکسن شاربن علامتی توسط موسسه رازی، سالانه شاهد تلفات و خسارات اقتصادی ناشی از این بیماری در گله‌های گاو بودیم اما تولید این واکسن به کاهش موارد وقوع بیماری در کشور کمک شایانی کرده است که دلیل کارایی موثر آن می‌باشد. این مقاله با هدف معرفی بیماری شاربن علامتی، عامل آن و نقش موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی در مبارزه با آن پرداخته است.

واژگان کلیدی

واکسن شاربن علامتی، کلستریدیوم شووای، موسسه رازی

بیان مسئله و اهمیت موضوع

شاربن علامتی یک بیماری آندمیک در سراسر جهان است که باعث خسارات مالی قابل توجهی به دامداران در ایالات متحده آمریکا، آمریکای لاتین، آسیا، آفریقا و اروپا می‌شود. در هند این بیماری در رده سوم اهمیت بعد از بیماری تب برفکی و سپتی-سمی هموراژیک می‌باشد. در نیجریه تلفات ناشی از این بیماری در گاو سالانه ۴/۳ میلیون دلار آمریکا برآورد شده است و این بیماری را در لیست A طبقه بندی نمودند. در ایران عفونت‌های کلستریدیایی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گاو و گوسفند و شاربن علامتی یکی از بیماری‌های مهم در گاو است. این بیماری، بسیار کشنده، همراه با التهاب و نکروز ماهیچه‌های اسکلتی و قلبی می‌باشد. این بیماری در بسیاری از نقاط کشور به ویژه در زمین‌های مرطوب، مناطق پست و زمین‌های شنی دیده می‌شود. تاکنون چندین مورد شیوع پراکنده از نقاط مختلف کشور گزارش شده است، اما شدیدترین آن در مرداد سال ۱۳۴۷ در میان گله‌های گاو در دو استان جنوبی ایران (فارس و خوزستان) رخ داد که بیش از ۴۰۰ راس دام تلف شدند. در سال‌های بعد نیز موارد متعدد بیماری در استان‌های کشور مشاهده شد (۱). اولین جداسازی باکتری کلستریدیوم شووای از گاو مبتلا به شاربن علامتی در سال ۱۳۱۵ در موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی انجام گرفت. در سال‌های بعد تعداد بیشتری از نمونه‌های مرضی از شهرستان‌های سراسر کشور ایزوله و خصوصیات توکسین‌زایی آن‌ها بررسی شد. با توجه به خسارات قابل توجه اقتصادی در صنعت دامپروری تولید واکسن شاربن علامتی برای ایمن‌سازی جمعیت دام‌ها به‌خصوص جمعیت گله گاو کشور از سال ۱۳۱۵ آغاز شد (۲). تحقیقات نشان داده که با شروع برنامه واکسیناسیون در کشور موارد بیماری رو به کاهش یافته است. لذا انجام واکسیناسیون منظم حیوانات جهت پیشگیری توصیه می‌شود و عدم واکسیناسیون علیه عامل این بیماری نقش مهمی در شیوع‌های پراکنده ایفا می‌نماید (۳). درحال حاضر بخش بی‌هوازی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی با تولید حدود ۲/۵ میلیون دز واکسن مونو والان شاربن علامتی نقش موثری در پیشگیری از این بیماری در کشور ایفا می‌نماید (تصویر شماره ۱).

تصویر شماره ۱- واکسن کشته شاربن علامتی تولیدی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی

سبب‌شناسی بیماری

کلستریدیوم شووای باسیل بی‌هوازی مطلق، گرم مثبت و اسپوردار به‌طول ۸-۳ میکرون و عرض ۱-۰/۵ میکرون و متحرک می‌باشد که باعث بیماری در دام می‌شود. اسپور باکتری از روده وارد بافت‌های مختلف به خصوص عضلات اسکلتی می‌شود و تا زمان ایجاد ضایعه‌ای در ناحیه به صورت نهفته باقی می‌ماند. در صورت ایجاد ضایعه در ناحیه پا، باکتری به شکل رویشی درآمده و به سرعت تکثیر نموده و تولید توکسین می‌نماید. باکتری و توکسین جذب خون شده و متعاقبا باکتریمی و توکسمی را به دنبال می‌آورد. تقریباً ۱۲-۴۸ ساعت بعد از بروز علائم بالینی، حیوان می‌میرد (تصویر شماره ۲) (۴).

تصویر شماره ۲- لاشه دام مبتلا به شاربن علامتی (۴).

عوامل حدت

آنتی‌ژن‌های اصلی کلستریدیوم شووای را می‌توان به دو دسته آنتی‌ژن‌های سلولی و آنتی‌ژن‌های محلول تقسیم کرد. آنتی‌ژن‌های سلولی را می‌توان به دو گروه آنتی‌ژن‌های سوماتیک و آنتی‌ژن‌های تاژک‌دار (H) تقسیم کرد. تاژک‌ها نقش اساسی در تحرک باکتری دارند، اما تحقیقات نشان داده که با چسبیدن به میزبان در پاتوژنز باکتری نیز نقش مهمی دارند. آنتی ژن‌های تاژکی توسط ژن fliC کدگذاری می‌شود. فلاژلین توسط گیرنده TLR۵ که در مونوسیت‌ها و فیبروبلاست‌ها بیان می‌شود، شناسایی می‌شود. گیرنده‌های سطح سلول‌های اپیتلیال روده به نواحی فلاژلین متصل می‌شوند و در نتیجه ترشح سایتوکاین فعال می‌شود. آنتی‌ژن‌های محلول شامل توکسین آلفا (همولیزین)، دزوکسی ریبونوکلئاز (بتا)، هیالورونیداز Nag (گاما)، همولیزین حساس به اکسیژن (دلتا) و نورآمینیداز/سیالیداز NanA می‌باشند. توکسین A کلستریدیوم شووای (CctA) متعلق به خانواده بزرگ سموم باکتریایی لکوسیدین است. این توکسین ترشح شده با وزن مولکولی ۳۳ کیلو دالتون برای سلول‌های اپیتلیال بینی گوساله جنینی بسیار سیتوتوکسیک بود و فعالیت همولیتیک بالایی در گلبول‌های قرمز گوسفند دارد. توکسین آلفا به عنوان فاکتور اصلی بیماری‌زای باکتری و یک آنتی ژن محافظ بسیار قوی در واکسن‌ها علیه شاربن علامتی در نظر گرفته می‌شود. بتا توکسین یک DNAse نسبتا مقاوم به حرارت با وزن مولکولی ۴۵ کیلو دالتون می‌باشد. هیالورونیداز که قبلا آن را گاما می‌نامیدند به آسانی به وسیله حرارت غیر فعال می‌گردد. هیالورونیداز عامل تجزیه اسید هیالورونیک است. دلتا همولیزین حساس به اکسیژن یا همولیزین III یک پروتئین با وزن مولکولی ۲۵ کیلو دالتون می‌باشد. از دیگر فاکتورهای ویرولانس می‌توان به نورآمینیداز/ سیالیداز NanA اشاره نمود. NanA یک پروتئین ۸۱ کیلو دالتون را به صورت دایمر ترشح می‌نماید. این ژن توسط ژن nanA کدگذاری می‌شود. آنتی‌سرم علیه پپتید حاوی CBM۴۰ و بخشی از دومین فعال آنزیمی NanA، فعالیت سیالیداز ترشح شده تمامی سویههای کلستریدیوم شووای را خنثی کرد. بنابراین، NanA می‌تواند برای کمک به ایمنی محافظتی استفاده شود (۵).

تشخیص

بیماری شاربن علامتی در سم‌داران به ویژه در گاو بروز می‌نماید. البته این باکتری از حیوانات وحشی نظیر گوزن و سمور نیز جدا شده است. معمولاً بین سنین ۶ ماه تا ۲ سال و در فصول گرم سال و در شروع بارندگی بروز می‌کند. این بیماری بیشتر در دام‌های چاق دیده می‌شود. پراکنش این بیماری در تمام دنیا بوده است. شایع‌ترین تظاهرات بیماری مرگ حاد است. از علائم قبل از مرگ می‌توان به تب، تورم و اختلال در عملکرد عضله آسیب دیده؛ اشاره نمود. غلظت سرمی کراتین کیناز و آسپارتات ترانسمیناز به طور معمول افزایش می‌یابد. خونریزی و ادم موضعی گسترده، اغلب همراه با حفرات ناشی از حباب‌های گاز، در عضلات آسیب دیده دیده می‌شود. فیبرهای عضلانی نکروزه قرمز تیره به نظر می‌رسند. ضایعات مرطوب یا خشک هستند. مشخصه آن، بوی کره ترش از اسید بوتیریک است. عضله قلب نیز می‌تواند درگیر شود. در سایر قسمت‌های بدن، خونریزی و ادم می‌تواند ناشی از توکسمی ایجاد شود. لاشه‌های مبتلا احتمالاً به دلیل تأثیر سموم کلستریدیایی روی بافت و دمای بالای بدن قبل از مرگ به‌سرعت اتولیز می‌شوند. حباب‌های گاز معمول هستند. بی‌اشتهایی، لنگش و بی‌حالی از مشخصات دیگر بیماری است (۴). باسیل‌های گرم مثبتی که ظاهر آن‌ها با کلستریدیوم شووای سازگار است ممکن است در عضله آسیب دیده قابل مشاهده باشد. جداسازی کلستریدیوم شووای در محیط‌های بی‌هوازی یا تکنیک‌های آنتی‌بادی فلورسنت برای تشخیص شاربن علامتی مفید است اما تنها در صورت وجود ضایعات بافتی معمول تایید می‌شود. زیرا اسپورهای کلستریدیوم شووای را می‌توان در عضله طبیعی یافت. از آزمون‌های دیگر تشخیص می‌توان به کشت در محیط‌های افتراقی و آزمون‌های تائیدی نظیر آزمون حرکت در محیط کشت SIM، آزمون‌های بیوشیمیایی، آزمون‌های سرولوژیک نظیر الایزا براساس فلاژلین نوترکیب، تکنیک ایمونوفلئورسنت، ایمونوهیستوشیمی و آزمون‌های مولکولی نظیر ۱۶S rRNA، ۲۳Sr DNA، ژن فلاژلین، Multiplex real-time PCR و تکنولوژی MALDI-TOF MS که جهت تشخیص موارد مرضی مورد استفاده قرار می‌گیرند، اشاره نمود (۵).

تاریخچه شاربن علامتی در دنیا

کلستریدیوم شووای عامل بیماری چهارپایان ماقبل قرون وسطی می‌باشد. در سال ۱۸۷۵ بولینگر بیماری شاربن علامتی را از شاربن متمایز نمود. کلستریدیوم شووای توسط فسر در سال ۱۸۷۶ توصیف گردید. در سال ۱۸۷۹ محققان فرانسوی آرلوینگ، کورنوین و توماس ثابت کردند که این بیماری توسط یک باسیل بی‌هوازی ایجاد می‌شود که متعاقباً باکتریوم شووای، سپس کلستریدیوم فسری و اکنون کلستریدیوم شووای نامیده شد (۳).

دستاورد

در کشورهای مختلف، واکسن‌های متعددی تولید می‌شوند که یا به‌صورت انحصاری علیه بیماری شاربن علامتی به کار می روند و یا در ترکیب با سایر آنتی‌ژن‌های کلستریدیاییاستفاده

جدول شماره ۱- مهم‌ترین واکسن‌های بر علیه بیماری‌های کلستریدیایی در دنیا.

نام واکسن	موسسه سازنده	کشور سازنده	اجزاء واکسن
شاربن علامتی	موسسه رازی	ایران	کلستریدیوم شووای
Supavax ®	MSD Animal Health	آفریقای جنوبی	کلستریدیوم بوتولینوم، کلستریدیوم شووای ، باسیلوس آنتراسیس
۷ ®ULTRABAC	Zoetis US	آمریکا	کلستریدیوم شووای، کلستریدیوم نوای، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم سوردلی، کلستریدیوم پرفرنجنس C-D
۸ Tasvax	Intervet Canada .Corp	کانادا	کلستریدیوم پرفرنجنس B-C-D ، کلستریدیوم شووای ، کلستریدیوم نوای تیپ B، کلستریدیوم تتانی کلستریدیوم همولیتیکوم، کلستریدیوم سپتیکوم
۷ ®BOVILIS	Merck	آلمان	موراکسلا بویس، کلستریدیوم شووای، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم نوا ی، کلستریدیوم سوردلی، کلستریدیوم پرفرنجنس C-D
Heptavac P Plus	Intervet	آمریکا	توکسوئیدهای بتا و اپسیلون کلستریدیوم پرفرنجنس، توکسوئیدهای سپتیکوم، تتانی، نوای، کلستریدیوم شووای، منهمیا همولیتیکا، پاستورلا تروهاموزی
۷ ®Bar-Vac	Boehringer Ingelheim	آمریکا	کلستریدیوم پرفرنجنس C-D، کلستریدیوم شووای، کلستریدیوم نوای، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم سوردلی، هموفیلوس سومنوس
MBTM-A/۷-Alpha ۷TM Alpha-CDTM-Alpha	Boehringer Ingelheim	آمریکا	کلستریدیوم پرفرنجنس C-D، کلستریدیوم نوای، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم سوردلی، کلستریدیوم شووای، موراکسلا بویس
۷TM Alpha--Alpha CDTM	Ceva	آفریقای جنوبی	کلستریدیوم پرفرنجنس A-B-C-D، کلستریدیوم شووای، کلستریدیوم ادماسین، کلستریدیوم تتانی، کلستریدیوم سپتیکوم

ادامه جدول شماره ۱- مهم‌ترین واکسن‌های بر علیه بیماری‌های کلستریدیایی در دنیا.

نام واکسن	موسسه سازنده	کشور سازنده	اجزاء واکسن
COGlAVAX	MSD Animal Health	ایرلند	کلستریدیوم پرفرنجنس A-B-C-D، کلستریدیوم شووای، کلستریدیوم نوای، کلستریدیوم تتانی، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم سوردلی، کلستریدیوم همولیتیکوم
۱۰ Tribovax	Intervet	آمریکا	کلستریدیوم پرفرنجنس A-B-C-D، کلستریدیوم شووای، کلستریدیوم نوای، کلستریدیوم تتانی، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم سوردلی، کلستریدیوم همولیتیکوم، لپتوسپیرا اینتروگانس
۱۰ Covexin	PFizer	آفریقای جنوبی	کلستریدیوم پرفرنجنس C-D ، کلستریدیوم نوای، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم سوردلی، کلستریدیوم شووای، منهمیا همولیتیکا
۷ One Ultra ShotTM	Zoetis, Inverted	آمریکا	کلستریدیوم پرفرنجنس A-B-C-D، کلستریدیوم شووای، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم همولیتیکوم، کلستریدیوم تتانی
۸ Covexin	Vetal	ترکیه	کلستریدیوم پرفرنجنس B-C-D، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم شووای، کلستریدیوم نوای تیپ A
Coglavax	Ceva	فرانسه	کلستریدیوم پرفرنجنس A-B-C-D، کلستریدیوم ادماسین، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم تتانی و کلستریدیوم شووای

می شوند (جدول شماره ۱). تولید واکسن نوترکیب بر علیه بیماری شاربن علامتی در مرحله تحقیقاتی می‌باشد و هنوز وارد مرحله تجاری نشده است.

در ایران (موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی) سابقه تحقیقات مربوط به تشخیص بیماری شاربن علامتی به سال ۱۳۱۵ باز می‌گردد که اولین سویه از کلستریدیوم شووای از گاو مبتلا به شاربن علامتی جدا گردید (۶). در سال‌های بعد موارد شیوع بیماری در استان‌های جنوبی کشور مشاهده شد که تلفات گسترده‌ای به دنبال داشت (۱). زنده یاد دکتر اردهالی، دکتر درخشان، دکتر موسوی شوشتری و دکتر دوران تحقیقات با ارزشی روی شناسایی کلستریدیوم شووای انجام دادند. عامل بیماری از نمونه‌های مرضی ارسالی از شهرستان‌های اصفهان، رشت، مشهد، بروجرد، شیراز، تبریز، یزد، همدان، رودسر، مراغه، جیرفت و کرمانشاه جدا و پس از بررسی خصوصیات توکسین‌زایی در آمپول‌های لیوفیلیزه در کلکسیون میکروبی بخش بی‌هوازی نگهداری شدند. تولید واکسن شاربن علامتی برای ایمن‌سازی گاوها در کشور از سال ۱۳۱۵ آغاز شد (۲). واکسن ابتدا به صورت دوگانه شاربن علامتی و پاستورلوز گاوی با همکاری بخش هوازی موسسه رازی تولید شد که نتایج آزمایشات آن نیز رضایت بخش بود. (۷) در سال‌های بعد به دلیل افزایش تقاضا حجم واکسن از ظروف شیشه ای ۲۰ لیتری به حجم فرمانتورهای صنعتی تغییر یافت (۸). در طی این زمان ارزیابی تاثیرات ترکیبات

مختلف محیط کشت در جهت کارایی بیشتر واکسن صورت گرفت و مطالعات تحقیقاتی زیادی در زمینه تغلیظ واکسن و کاهش مصرف آن از ۳ میلی‌لیتر به ۲ میلی‌لی‌تر انجام و در مقالات و کنفرانس‌های بین‌المللی ارائه شد (۹). همچنین شرکت در دوره‌ها و بازدیدهای علمی از مراکز واکسن سازی نظیر فایزر انگلستان، انستیتو پاستور لیون-فرانسه، انستیتوسروتراپی تولوز-فرانسه و موسسه ریجکز صورت گرفت و تجارب تولید واکسن در فرمانتور در این مرکز به کار گرفته شد. با شروع برنامه واکسیناسیون موارد بیماری کاهش یافت. در سالیان متمادی بررسی‌های متعددی در زمینه اثربخشی واکسن انجام شده است. در تحقیقی که در سال‌های ۱۳۸۲ تا ۱۳۸۴ بر روی گاوهای استان خوزستان انجام شد نشان داد تفاوت معنی‌داری از نظر کارآیی بین گاوهای واکسینه و گروه کنترل وجود دارد (۱۰). از منظر پیشگیری، واکسن شاربن علامتی یکی از واکسن‌های مهم دامپزشکی می‌باشد که سالانه دو بار به جمعیت دامی کشور به خصوص گاو تجویز می‌گردد. بخش تحقیق و تولید بی‌هوازی موسسه رازی از دهه‌های گذشته با تولید میلیون‌ها دز واکسن شاربن علامتی نقش بسیار موثری در پیشگیری از این بیماری داشته است. تولید این واکسن در داخل کشور باعث تسهیل اجرای سیاست‌های پیشگیری سازمان دامپزشکی و منجر به کاهش خسارات اقتصادی به صنعت دامپروری و جلوگیری از خروج ارز و وابستگی میشود. البته انجام مطالعات اپیدمیولوژیک در خصوص سوش‌های بومی کلستریدیایی جهت ارزیابی پتانسیل استفاده از آن‌ها در ساخت واکسن‌های موثرتر، تولید واکسن‌های تغلیظ شده و پلی‌والان کلستریدیایی توصیه میگردد.

توصیه ترویجی

برای بیماری‌های کلستریدیایی دام درمان اختصاصی وجود ندارد. لذا پیشگیری از آنها طبق برنامه واکسیناسیون توصیه می‌گردد. با توجه به گستردگی وجود این باکتری‌ها در منابع مختلف اعم از خاک و روده حیوانات، امکان ریشه‌کنی بیماری شاربن علامتی را دور از دسترس نموده است لذا برنامه واکسیناسیون منظم جهت پیشگیری از بیماری امری ضروری و حیاتی است. در دام‌هایی که از مادران ایمن متولد می‌شوند، واکسیناسیون باید در ۳ ماهگی آغاز شود. ایمن‌سازی برای دام‌هایی که برای بار اول واکسینه می‌شوند در دو نوبت و به فاصله ۳-۲ هفته می‌باشد و تزریق یادآور آن هر ۶ ماه یک‌بار صورت می‌گیرد. ممکن است یک نودول کوچک در محل تزریق به وجود آید که به تدریج جذب شده و از بین خواهد رفت. باید توجه نمود از مصرف داروهای تضعیف کننده سیستم ایمنی هم زمان با واکسیناسیون خودداری شود. همچنین از واکسیناسیون دام‌های بیمار خودداری شود. دو ساعت قبل و یک روز پس از واکسیناسیون به دام‌ها استراحت داده و از جابجایی آن‌ها خودداری شود. باید تمامی دام‌های سالم در گله به صورت هم زمان واکسینه شوند. نکته بسیار مهم در مورد واکسن شاربن علامتی حفظ زنجیره سرد و نگهداری آن در شرایط ۲-۸ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. همچنین تمامی سوسپانسیون واکسن باید در یک نوبت مورد مصرف قرار گیرد. در غیر این صورت الزامی می‌باشد باقی مانده واکسن از چرخه مصرف حذف شود. به منظور جلوگیری از سوء استفاده‌های احتمالی، ضروری است واکسن از طریق سازمان دامپزشکی و از طریق دامپزشکان مجرب تهیه و تزریق شود.

فهرست منابع

1. Ardehali M, Khalili M, Dowran H. Characterization of Clostridium chauvoei strains isolated from an outbreak of blackleg in Iran. Archives of Razi Institute. 1971;23(1):119-23.

2. Ardehali M, Aarabi I, Moosawi M, Sotoodenia A, Pilehchian R, Mahinpour M. Immunisation of cattle and buffaloes with a combined blackleg and haemorrhagic septicemia vaccine. Indian veterinary journal. 1997;74(12):1009-11.

3. Prasad T. Genome sequencing and molecular typing of Clostridium chauvoei. Genome sequencing and molecular typing of Clostridium chauvoei. 2018; 12: 732106.

4. Wolf R, Hiesel J, Kuchling S, Deutz A, Kastelic J, Barkema HW, et al. Spatial-temporal cluster analysis of fatal Clostridium chauvoei cases among cattle in Styria, Austria between 1986 and 2013. Preventive veterinary medicine. 2017;138:134-8.

5. Ziech RE, Gressler LT, Frey J, Vargas ACd. Blackleg in cattle: current understanding and future research needs. Ciência Rural. 2018;48(5). https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170939

6. Raf'yi A, Ardahali M. Les maladies causées par les anaérobies pathogènes sporulés chez les animaux domestiques. Archives of Razi Institute. 1964;16(1):8-24.

7. Jabbari AR, Muazzeni Jula GR, Pilehchiyan Lngrudi R, Mossavi Shoshtari M, Abdolmohammadi Khiyav L, et al. Preparation and evaluation of Improved blackleg and hemorrhagic septicemia vaccine. 2008.

8. Pilehchian LR, Jabbari A, Moosawi SM. Large scale production of Blackleg vaccine by fermenter and enriched culture medium in Iran. 2012; 67(1): 43-49

9. Moosawi M, Pilehchian Langroodi R, Jabbari A, Abdolmohammadi Khiav L. Study on production of reduced dose blackleg concentrated vaccine. in jubilee world buiatrics congress; Budapest, Hungary 2008.

10. Haghroosta A, Shooshtari M, Langroudi R, Esmaily F. Study on efficiency of blackleg vaccine in cattle in Khuzestan province, Iran. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2014;5(2):1741-6.