

سرم درمانی در دیفتتری

مجله علمی نظام پزشکی

سال ۲، شماره ۳، صفحه ۱۹۲، ۱۳۵۰

دکتر ایرج ضمیری *

مقدمه

تزریق کرد و سرم آنها را که از این آزمایش جان بدر برده بودند گرفت و به حیوانات دیگر که به دیفتتری مبتلا شده بودند تزریق کرد و آنها را از مرگ نجات داد. بر پایه این تحقیقات و آزمایشهای جداگانه دیگر، بهرینگ (۱) Behring و کیئاساتو (Kiliasato) متوجه پیدایش پادزهر (Antitoxin) شدند. آزمایشهای ایشان سه جنبه اصلی داشت: اول- میکربهای کشته شده و یا تعداد کمی از میکربهای زنده نه تنها سبب مرگ حیوانات آزمایشی نشدند بلکه سبب پیدایش ایمنی در آنها گردیدند. دوم- سرم این حیوانهای ایمنی یافته را اگر به حیوانهای دیگری تزریق کنند با آنها ایمنی موقتی میبخشند و از پیدایش مرگ و یا مراض جلوگیری میکنند. سوم - سرم این حیوانات ایمنی یافته در مداوای مرض دیفتتری در دیگر حیوانات مؤثر است.

در سال ۱۸۹۲، بهرینگ Behring و ورنیک Wernicke (۲) این ایمنی انفعالی موقتی (Passive immunity) را در انسان نشان دادند. بر اثر این مشاهدات، بهرینگ، برای اولین بار در تاریخ پزشکی از سرم ضد دیفتتری که از گوسفندی تهیه شده بود استفاده کرده و بدختر بچه آلمانی که بمرض دیفتتری مبتلا شده بود تزریق کرد، و او را از مرگ نجات داد.

این عمل تاریخی در شب کریسمس ۱۸۹۱ انجام گرفت. برای تهیه پادزهر دیفتتری، آلمانیها از بز و گوسفند استفاده میکردند. ولی در سال ۱۸۹۴، رو (Roux) در فرانسه از اسب برای تهیه سرم ضد دیفتتری استفاده کرد. در ۱۸۹۹، پال ارلیخ (Paul Ehrlich) روش اندازه گیری سرمها و زهرها Toxin را پیشنهاد کرد و برای تحقیقاتش موفق به دریافت جایزه نوبل شد.

در قرن نوزدهم، برتونو Bretonneau (۳) هنگام شیوع دیفتتری در فرانسه و در نتیجه مشاهدات بالینی، بیماری دیفتتری را شرح داد و آن را دیفتتریت نامید و ریشه آن را از مصر دانست. شرح این مرض را در تورآت مقدس و نوشتههای پزشکان قرون وسطی در خاور میانه و مصر و روم میتوان یافت. در قرون پانزدهم و شانزدهم میلادی، این مرض در اروپا شایع شد و گروه زیادی را هلاک کرد و در بعضی از دهات و شهرهای کوچک اروپای غربی تمام جوانان و اطفال را از بین برد. در نوشتههای پزشکان اسپانیایی آندوره شرح مرض دیفتتری آمده است. دیفتتری تنها و بالجان فقرانشد، بلکه افراد اعیان و خانواده سلطنتی فرانسه نیز از آن در امان نماندند. یکی از کودکان خانواده ناپلئون دیفتتری گرفت و مرد و مرگ او سبب شد که ناپلئون برای تجسس و مداوای این مرض جوایزی تعیین کند.

در اواخر قرن نوزدهم میلادی در ممالک فرانسه و آلمان، پزشکان محقق برای پیش گیری و مداوای دیفتتری کوششی پی گیر داشتند. لوفلر (۱۰) Loeffler موفق شد که میکرب دیفتتری را جدا و نظریه ماده کشنده ای را که از میکرب دیفتتری ترشح میشود، عرضه کند. رو (Roux) و یرسین (Yersin) (۱۴) در سال ۱۸۸۸، زهر دیفتتری را از میکربش جدا کردند و با تزریق آن به خوک هندی سبب مرگ آن حیوان شدند و نظریه لوفلر با ثبات رسید.

۱- کشف سرم ضد دیفتتری

در سال ۱۸۹۰، فرنکل Fraenkel (۷) در آلمان بر اثر آزمایشهایی که بعمل آورد، پایه تجسسات این قسمت را بنیان نهاد و کار او سبب پیدایش سرم دیفتتری شد. فرنکل، میکرب دیفتتری را به حیوانات آزمایشی

۲- تأثیر سرم در مداوای دیفتري

متأسفانه عالم پزشکی، اهمیت تجسسات فرنکل، بهرینگ، کیتاساتو و ورنیک، ومعالجه دختر دیفتري زده آلمانی را در آن موقع درنگ نکرد تا آنکه سه سال بعد، در سال ۱۸۹۴، رو (Roux) نتیجه مشاهدات بالینی و اثر شفا دهنده سرم ضد دیفتري را در هشتمین کنگره بین المللی بهداشت اعلام داشت. طبق آمار او احتمال نجات از مرگ ۲۷ درصد بالا رفت. در همین زمان نیز محققین آلمانی بامعالجه ۲۱ هزار مریض با سرم ضد دیفتري نتایج مشابهی بدست آورده بودند. در انگلستان در سال ۱۸۹۵، سرم ضد دیفتري را که در فرانسه تهیه شده بود، برای معالجه مبتلایان به دیفتري بکار بردند و پزشکان انگلیسی مدعی شدند که مرگ دیفتري را از ۳۰ درصد به هفت درصد تقلیل داده اند و مخصوصاً در مداوای دیفتري حنجره (Laryngeal diphtheria)، مرگ از ۶۲ درصد به ۱۲ درصد رسیده است (Parish) (۱۲). هر چند که از اوایل قرن بیستم تا امروز اکثر گزارشها مؤثر بودن سرم ضد دیفتري را تاکید کرده اند ولی در بعضی از این گزارشها همه جوانب امر در نظر گرفته نشده است، چنانکه پاریش (۱۲) در آمار خود که در آن مفید بودن سرم تاکید شده، کاهش تدریجی مرگ در اثر دیفتري را قبل از پیدایش سرم در نظر نگرفته است، بنابراین این نتیجه گیری او صحت کامل ندارد. این کم شدن تدریجی که بدان اشاره شد ممکن است در اثر پیدایش ایمنی گروهی-Herd immunity و یا کم شدن حدت میکرب Virulence و یا تغییر در نوع میکرب دیفتري و یا مقدار ترشح زهر آن باشد (۱۹). دونفر از پزشکان کوبائی (۱۳) سه هزار مریض دیفتري را به سه راه مختلف معالجه کردند (جدول ۱). به گروه اول فقط پنی سیلین دادند،

مقایسه نسبت مرگ در اثر دیفتري که به سه نوع زیر مداوا شده اند (۱۳)

نوع دیفتري	پنی سیلین	پاد زهر دیفتري	پنی سیلین و پاد زهر
حنجره ای	۲۶/۳ درصد	۲۴/۸ درصد	۱۹/۲ درصد
حلقی	۲/۲ درصد	۳/۶ درصد	۷/۶ درصد

جدول ۱

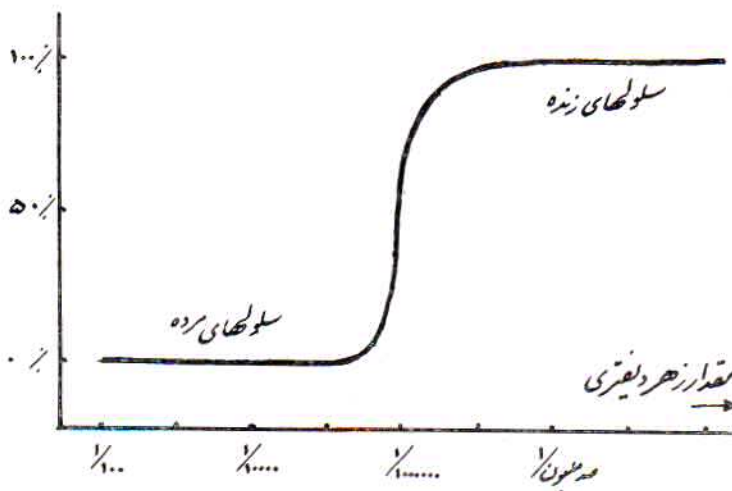
بگروه دوم سرم ضد دیفتري تجویز و برای درمان گروه سوم پنی سیلین و سرم باهم استعمال شد. چنانکه ملاحظه میشود در میان گروهی که فقط پنی سیلین به آنها داده شده بود مرگ کمتر بود. بعضی از پزشکان بر این نظرند که اهمیت مطلق سرم ضد دیفتري هنوز کاملاً ثابت نشده است، ولیکن عاقبت این مرض چنان وخیم است

که صلاح نیست از تجویز سرم، حتی اگر اهمیت و ارزش آن ثابت نشده باشد، دست برداشت.

۳- سرعت اثر زهر و پاد زهر دیفتري

میکرب دیفتري، داخل گلو، بینی، حنجره، درغشاء کاذب و یا حتی زخم پوستی، زهري بسیار قوی ترشح میکند که جذب بدن شده با جریان خون به نقاط مختلف بدن رفته برانساج بدن مخصوصاً اعصاب و قلب اثر میکند و باعث مرگ بعضی از بیماران میشود. اکثر محققین معتقدند که زهر دیفتري آنرا جذب دیواره سلولها میشود و بعد از آنکه جذب شد خنثی کردن آن ممکن نیست.

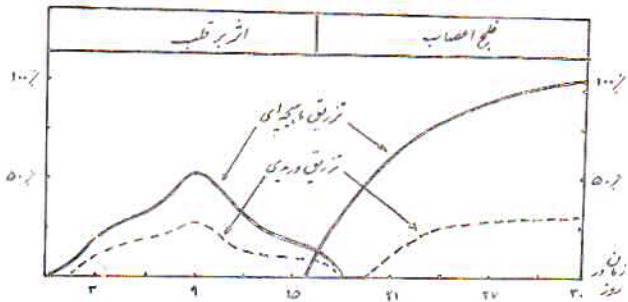
با دسترسی به کشت سلولهای انسانی Human tissue culture موقع مناسبی برای تحقیق این نکته، بوسیله نگارنده بدست آمد. ابتدا انواع مختلف سلولهای انسانی و حیوانی که امکان کشت آنها وجود داشت در ماده ایگل Eagle's medium کشت داده شد و مقدار زهر دیفتري که سبب مرگ این سلولها میشد تعیین گردید (شکل ۱) و بعد از آن مقدار پاد زهر و زمانی را که آن پاد زهر توانائی خنثی کردن اثر زهر را دارد بدست آمد (شکل ۲). برخلاف گذشته که گمان میکردیم، زهر دیفتري آنرا جذب جدار سلول میشود و بنابراین خنثی شدنی نیست، این آزمایشها نشان داد که حتی اگر زهر دیفتري آنرا جذب دیواره سلولها شود تا یک ساعت و حتی دو ساعت بعد از آن میتوان اثر کشته اش را تا حدی خنثی کرد. (گزارش دقیق و روش این آزمایشها در آینده بچاپ میرسد) (۲۰)



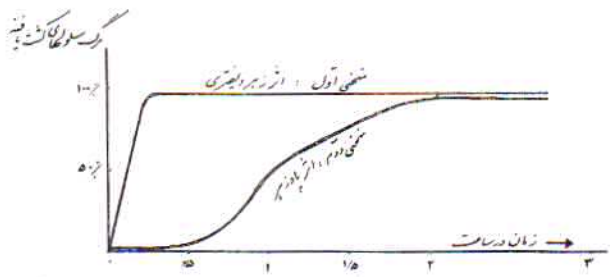
شکل ۱- اثر کشته زهر دیفتري بر سلولهای کشت شده انسانی HEP2. این منحنی اثر محلول یکصدم تا یکصد میلیونیم زهر دیفتري را نشان میدهد (۲۰)

۴- روش تزریق سرم ضد دیفتري

یک گروه از محققین هلندی (۱۷) آزمایشهای بسیار در این باره بعمل آوردند. ایشان زهر دیفتري را به خوکهای هندی تزریق کردند و بعد با تزریق سرم ضد دیفتري در ماهیچه و یا ورید نشان دادند که: اول - فلج اعصاب در میان آنهایی که سرم ضد دیفتري را از راه وریدی دریافت کرده اند کمتر بوده است. دوم - پیدایش فلج اعصاب در این گروه دیرتر بوده است. سوم - تعداد کمتری از خوکهای این گروه به میوکاردیت مبتلا شده اند (۲۵ درصد). (شکل ۴). دلیل این مشاهدات معلوم است، اگر سرم ضد دیفتري در ورید زده شود تمام پادزهرها در همان وقت تزریق با گردش خون جریان خواهند یافت ولی تمام پادزهرهایی که در ماهیچه تزریق شود در خون جریان نمی یابد و چنانکه (شکل ۵) نشان میدهد در روزهای اولیه تفاوت زیادی مابین این دو روش است. چون در روزهای اول احتیاج به پادزهر زیاد است بهترین است که سرم را از راه ورید تزریق کرد. راه دیگر استعمال سرم، تزریق وریدی و ماهیچه ای، باهم است.

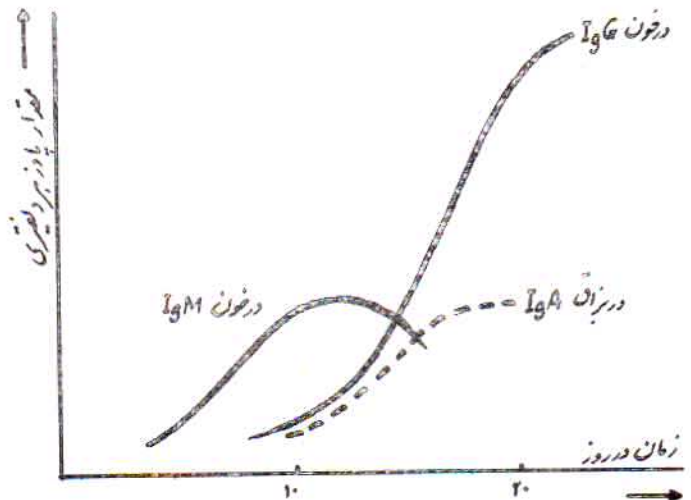


شکل ۴ - تفاوت اثر پادزهر دیفتري که از راه وریدی و ماهیچه ای تزریق شده اند. چنانکه ملاحظه میشود تعداد میوکاردیت و فلج اعصاب در حیواناتی که از راه وریدی مداوا شده اند کمتر است (۱۷)

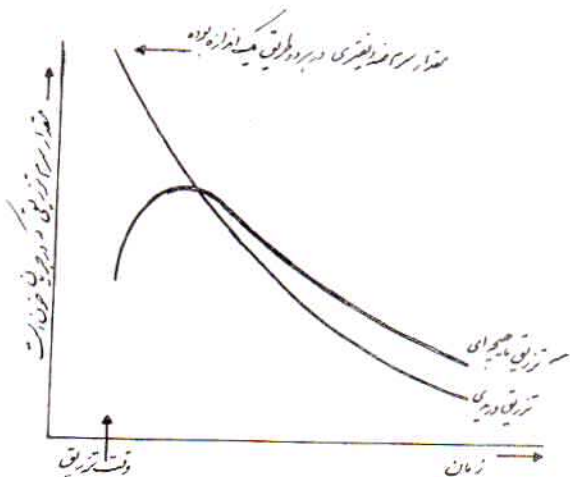


شکل ۲ - اثر زهر دیفتري بر سلولهای گشت شده انسانی HEP2 (منحنی اول) و اثر پادزهر دیفتري در خنثی کردن آن. هر چند زهر دیفتري آنرا جذب جداره سلولها میشود ولیکن در مدت یکساعت اول میتوان اثر آنرا خنثی کرد و اقلاً ۵۰ درصد سلولها را از مرگ نجات داد (منحنی دوم) (۲۰)

از سه نوع پادزهرهای (Immunoglobulins) دیفتري، نوع IgG و IgM را در جریان خون، و نوع IgA را در بزاق دهان، میتوان یافت (۴). اول IgM و بعد از آن IgG پدیدار (شکل ۳) و در همان زمان IgA هم در بزاق دهان پیدا میشود. ممکن است که IgA ضد دیفتري برای از بین بردن زهر میکرب دیفتري در محل ترشح آن مؤثر باشد و کسانی که در برابر دیفتري ایمنی دارند میتوانند با IgA ضد دیفتري اثر زهر میکرب را خنثی کرده عوامل دفاعی دیگر میکرب را هم از بین ببرند. پادزهرهای دیفتري نوع IgG که در خون در جریانند فقط زهری را که تازه در خون جذب شده و هنوز بدیوار سلولها نرسیده و یا تازه بدیواره سلولها جذب شده اند، خنثی میکنند و بیش از این در بهبود حال مریض کاری نمیتوانند انجام دهند. در حقیقت نقش آنها پیش گیری است نه معالجه، بنابراین، بهنگام معالجه مریض طریقه تجویز و مقدار سرم باید چنان باشد که در اسرع وقت، مقدار فراوان پادزهر در جریان خون قرار گیرد.



شکل ۳ - پیدایش سه نوع مختلف پادزهر دیفتري (۴ و ۵ و ۹)



شکل ۵ - نمودار مقدار پادزهر دیفتري، که در ماهیچه و ورید تزریق شده، در جریان خون (۱۷)

ورید بمریض داده شود، سبب بهبود بیمار میشود و فلج اعصاب کمتر پدید میآید. گزارش دیگری از دانماک (۱۱) نشان میدهد که دو تا چهار هزار واحد سرم انسانی همانند یا مفیدتر از صد هزار واحد سرم حیوانی است و چنانکه این آمار نشان میدهد، سرم انسانی در معالجه دیفتری شدید، مفیدتر از سرم حیوانی است، نکته مهم آنکه این سرم را از راه وریدی تزریق کرده اند. ولیکن گزارش آزمایش بر حیوانات نشان میدهد که اثر سرم هم جنس Homologous antiserum و سرم غیر هم جنس Heterologous antiserum یکسان است. (۲۰ و ۱۶)

چون نتیجه این آزمایشها با گزارشهای بالا تطبیق نمیکرد، آزمایشهایی روی سلولهای انسانی انجام و اثر پادزهر انسانی با پادزهر حیوانی (اسب) روی زهر دیفتری مقایسه شد و در آن تفاوت زیادی دیده نشد (مطالعات شخصی) (۲۰). گزارش دقیق این آزمایشها و تحقیقات بعداً بچاپ میرسد. البته ممکن است که مقایسه نتایج این آزمایشها با نظرات دانمارکیها و آقای دکتر سیادت صحیح نباشد زیرا نظرات ایشان بر مبنای زرق داخل وریدی، پادزهر انسانی است و شاید نتیجه اصلاً بنوع سرم بستگی نداشته و مربوط به روش تزریق آن باشد. اگر چنین باشد نتیجه آزمایشهای تاسمن و همکارانش تأیید میشود.

۷- عاقبت سرم تزریق شده

اگر پادزهر دیفتری را از خرگوشی تهیه و آن را به خرگوش دیگری که در برابر دیفتری ایمنی ندارد تزریق کنیم، این پادزهر بیش از پنجاه روز در جریان خون خرگوش دوم باقی خواهد بود و باو ایمنی خواهد بخشید. در شکل ۶ (منحنی ۱) وجود پادزهر هم جنس و مقدار آن را در روزهای بعد از تزریق نشان میدهد. ولی اگر پادزهر را از اسب تهیه کرده به خرگوشی که به دیفتری مبتلا نشده و ایمنی نیسافته است تزریق کنیم، چون این پادزهر اسبی ماده ای خارجی است زود از بین میرود، بنابراین مصنوعیتی که پادزهر غیر هم جنس بخورگوش میدهد زیاد طول نمیکشد و بعد از ده تا بیست روز تمام میشود (منحنی دو در شکل ۶).

اگر سرم اسب برای بار دوم به خرگوش تزریق شود، چون خرگوش قبلاً با سرم اسب آشنائی یسافته و پادتن برضد آن درست کرده است، پادزهر دیفتری که از اسب تهیه شده و در دفعه دوم به او تزریق شده است سرعت از بین میرود (منحنی سه در شکل ۶). بنابراین، مزیت دیگر سرم انسانی بر سرم حیوانی ایمنی بخشیدن بمدت طولانی است اگر چه این مزیت در معالجه دیفتری اهمیت ندارد.

نکته مهم دیگر خنثی کردن زهرهای ترشح شده در بزاق دهان و مایعات اطراف گلو و حنجره و بینی است. محققین هلندی (۱۷) نشان دادند که اگر سرم از راه ورید بمریض تزریق شود بعد از نیم ساعت پادزهر تزریقی را در بزاق دهان میتوان یافت، در صورتیکه اگر سرم را در ماهیچه تزریق کنیم پادزهر در بزاق به تأخیر می افتد و گاهی ممکن است نه روز طول بکشد. چون منظور ما تنها خنثی کردن زهرهای جذب شده نیست بلکه زهرهای ترشح شده نیز باید خنثی شوند بهتر است که بهنگام مداوای مریض این موضوع را در نظر بگیریم.

۵- مقدار سرم تزریقی

مقدار تزریقی سرم ضد دیفتری از ده هزار تا صد هزار واحد است و به سن مریض، وخامت حال او، شدت مرض و نظر پزشک معالج بستگی دارد. اگر مرض شدید و یا دیفتری به حنجره رسیده باشد در حدود صد هزار واحد سرم بمریض زده میشود. در هندوستان که مرض دیفتری چون امراض عفونی دیگر شایع است مقدار سرم تزریقی بستگی به شدت مرض دارد، (جدول ۲). ولیکن یکی از پزشکان همان دیسار (۸) مدعی شده است که ده هزار واحد سرم دیفتری زهرهای موجود در جریان خون را خنثی میکند. گاندی (۸) یک گروه از بیماران را با بیست هزار واحد و گروه دیگر را با صد هزار واحد سرم معالجه کرد و تفاوتی بین آنها ندید و پیشنهاد کرد ۲۰ هزار واحد کافی است. تاسمن Tasman (۱۷) نشان داد که اگر این مقدار سرم در ورید تزریق شود در مدت نیم ساعت پادزهر دیفتری در بزاق دهان پیدا میشود و اثر جلی نیز خواهد داشت.

مقدار سرم ضد دیفتری (اسبی) که در هندوستان بکار میبرند (۶)

نوع دیفتری	مقدار سرم تزریقی (واحد)
بچی	بیست هزار
یک لوزه	بیست هزار
لوزتین	چهل هزار
لوزه و حلق	شصت هزار
حنجره	چهل تا صد هزار
وخیم یا تورم شدید غدد گردن	صد هزار

جدول ۲

۶- سرم انسانی یا سرم حیوانی

در سال ۱۹۶۶ میلادی، گروه متخصصین سرم شناس بهداشت جهانی (۱۸) گزارش دادند که بر اثر کمی اطلاعات علمی نمی توان درباره ارزش سرم ضد دیفتری انسانی قضاوت کرد، ولی در تابستان سال ۱۳۴۸ شمسی، آقای دکتر سیادت (۱۵) در یک سخنرانی اظهار داشتند که سرم انسانی، حتی اگر مقدار پادزهر دیفتری آن کم باشد و از راه

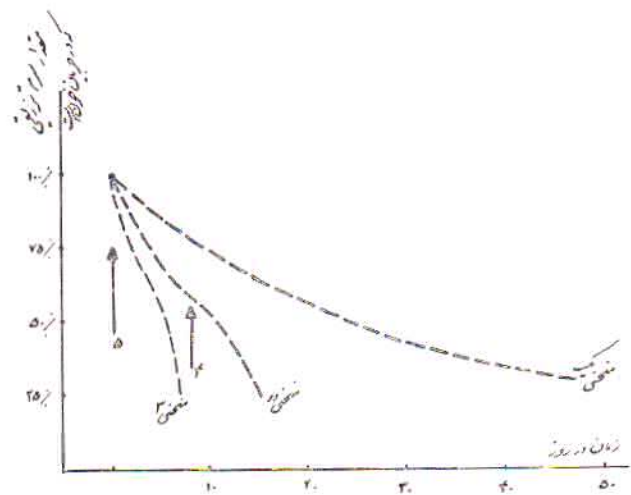
دیفتری مخصوصاً اگر این سرم از راه وریدی تزریق شود قبلاً ذکر شد. عیب تزریق وریدی مقدار زیاد سرم، این است که جان مریض مبتلا به دیفتری که مبتلا به میوکاردیت Myocarditis باشد در خطر خواهد افتاد و عیب دیگر آنکه، امکان تزریق ویروسهای هپاتیت عفونی وجود دارد Infectious hepatitis. اگر سرم انسانی را تصفیه و تقطیر کرده فقط گاماگلوبولین‌ها Gammaglobulins را برای تزریق تهیه کنیم حجم آن (یک پنجم حجم اولی) کمتر میشود و امکان انتقال ویروس هپاتیت عفونی تقریباً از بین میرود، متأسفانه مشکل جدیدی پیش می‌آید، به این ترتیب که در اثر تصفیه و تغلیظ سرم، گاماگلوبولین‌های انسانی بهم می‌چسبند و اگر از راه وریدی تزریق شوند ممکن است سبب عکس العمل شدید و حتی مرگ شود.

نتیجه :

- ۱- اکثر پزشکان بر آنند که سرم ضد دیفتری اگر نتواند زهرهای جذب سلول شده را خنثی کند، اقلای زهرهای دیفتری را که در خون درجریابند و با توسط میکروب دیفتری ترشح میشوند خنثی و از آسیب بیشتر جلوگیری میکند.
- ۲- مهمترین قدمی که برای معالجه دیفتری میتوان برداشت، تزریق فوری سرم ضد آن است.
- ۳- اگر بتوان پادزهر را از راه ورید تزریق کرد، بهتر است که هر چه زودتر بدان اقدام کرد تا مقدار زیادی پادزهر در خون جریان یابد.
- ۴- مقدار سرم تزریقی بستگی به شدت مرض و نظر پزشک دارد و از بیست هزار تا صد هزار واحد متغیر میباشد.
- ۵- هر چند برتری اثر سرم انسانی بر حیوانی ثابت نشده است، ولی سرم انسانی، با وجود مزایای دیگر آن، آینده خوبی دارد.



تشکر : در خاتمه از بنیاد پزشکی ولکام و پرفسور مکن تگارت و آقای دکتر معتمدی رئیس دانشگاه اصفهان و آقایان دکتر کامبیز حادقی و دکتر میرشمسی و دکتر استرآبادی (انستیتو رازی طهران) و آقای دکتر سیادت، (بیمارستان فیروزآبادی) و آقای دکتر مولوی (بیمارستان پهلوی) و آقای دکتر ظریفی رئیس آزمایشگاه رفرانس، تشکر میکنم. بدون کمک‌های ایشان تحقیقات این جانب درباره پادزهر دیفتری و جنبه‌های دیگر این مرض ممکن نمی‌بود.



شکل ۶ - نمودار عمر پاد زهر هم جنس و غیر هم جنس

منحنی ۱ - پادزهر هم جنس غیرطولانی دارد و تا ۵۰ روز ایمنی میدهد. منحنی ۲ - پادزهر غیر هم جنس ما بین ده تا بیست روز ایمنی می‌بخشد. منحنی ۳ - پادزهر غیر هم جنس، که در اثر آشنائی قبلی حیوان بدن، با سرعت از بین میرود.

خط چهار - امکان بروز حساسیت سرمی در اثر تزریق سرم غیر هم جنس خط پنج - امکان بروز عکس العمل شدید ANAPHYLAXIS در اثر تزریق قبلی سرم غیر هم جنس و وجود پاد زهر بر ضد سرم غیر هم جنس

۸- مشکلات درهان با سرم

الف - سرم غیر هم جنس Heterologous antiserum: هر چند که سرم ضد دیفتری اسبی در مداوای عرض دیفتری مفید است ولی دو سه ایراد بر آن وارد است. اول: پادزهر اسبی ماده‌ای خارجی است و بدن انسان با فعالیت تمام آن را از بین میبرد (شکل ۶ منحنی ۲). دوم: بعد از یک هفته بدن انسان بر ضد سرم اسب پادتن می‌سازد که ممکن است در حین از بین بردن سرم اسب، اثر بدی در بدن بگذارد Serum sickness (حساسیت سرمی: شکل ۶ خط ۴). سوم: در آینده نمی‌توان به چنین شخصی سرم اسبی تزریق کرد چون ممکن است سبب عکس العمل شدید Anaphylaxis شده احتمالاً بمرگ منتهی شود (شکل ۶ خط ۵)، هر چند با تقطیر و تصفیه سرم اسبی بروز این عکس العمل‌ها کمتر شده ولی هنوز امکان آن هست، و خوش‌تر است که راه بهتری پیدا کرد.

ب - سرم‌های دیگر: در صورت وقوف به وجود حساسیت ب سرم اسبی ممکن است در صورت دسترسی، از سرم ضد دیفتری که از بزویا گوسفند تهیه شده استفاده کرد.

پ - سرم انسانی: مزایای استفاده از سرم انسانی در مداوای

REFERENCES :

- 1- Behring, Emil von, and Kitasato, S., 1890. Dtsch. Med. Wschr., 16, 1113.
- 2- Behring, E. and Wernicke, E. 1892. Z. Hyg. Infekt.-kr., 12, 10.
- 3- Bretonneau, P. 1826. «Des inflammations speciales du tissu muqueux et en particulier de la diphterite ou inflammation peculaire.» Paris: Crevot.
- 4- Brown, W.R., Newcomb, R. W. and Ishizaka, K. 1970. J. Clin. Invest., 49, 1374.
- 5- Butler, W. T., Rossen, R. D. and Wende, R. D. 1970. J. Immunol., 104, 1396.
- 6- Deshpande, R. S., Patel, J. I. and Shetty, S. V. 1969. J. Postgrad. Med., 16, 5.
- 7- Fraenkel, C. 1890. Berl. Klin. Wochenschr., 3, 1133.
- 8- Gandhi, M. H. 1966. J. Indian Med. Assoc., 46, 152.
- 9- Heremans, J. F., Vearman, J. P. and Vaerman, C. 1963. J. Immunol., 91, 11.
- 10- Loeffler, F. 1884. Mitt. Reichsgesundh. Amt, 2, 421.
- 11- Mudd, S. 1970. Infectious agents and host reactions. (W. B. Saunders), P. 122.
- 12- Parish, H. P. 1965. A history of immunization. (E. & S. Livingstone, London), P. 129.
- 13- Romulus, C.J. and Gonzalez, H. 1965. Bol. Hig. Epidem. Havana, 3,77.
- 14- Roux, E. and Yersin, A. 1888. Ann. Inst. Pasteur, 2, 629.
- 15- Siyadat: Personal correspondence.
- 16- Smith, J. W. G. and Schallibaum, E. M. 1970. Br. J. Expt. Path. 51, 73.
- 17- Tasman, A., Minkenhof, J. B., Vink, H. H., Brandwijk, A. C. and Smith, L. 1958. Lancet, i, 1299.
- 18- Wld. Hlth. Org. Tech. Rep. Ser. 1966, 327.
- 19- Zamiri, I. 1970. Lancet, i, 1222.
- 20- Zamiri, I. Personal observations.