

سرم درمانی در دیفتزی

مجله علمی نظام پزشکی

سال ۲، شماره ۳، صفحه ۱۹۲، ۱۳۵۰

دکتر ایرج ضمیری *

تزریق کرد و سرم آنها را که از این آزمایش جان بدر برده بودند گرفت و به حیوانات دیگر که بدیفتزی مبتلا شده بودند تزریق کرد و آنها را از مرگ نجات داد. برپایه این تحقیقات آزمایشهای جداگانه دیگر، بهرینگ (Behring) و کیتاساتو (Kitasato) متوجه پیدایش پادزهر (Antitoxin) شدند. آزمایشهای ایشان سه جنبه اصلی داشت: اول- میکروب‌های کشته شده و با تعداد کمی از میکروب‌های 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 مرض جلوگیری میکنند. سوم- سرم این حیوانات ایمنی یافته در مداوای مرض دیفتزی در دیگر حیوانات مؤثر است.

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

این عمل تاریخی در شب کریسمس ۱۸۹۱ انجام گرفت. برای تهیه پادزهر دیفتزی، آلمانی‌ها از بز و گوسفند استفاده میکردند. ولی در سال ۱۸۹۴، رو (Roux) (در فرانسه از اسپرسون) ضد دیفتزی استفاده کرد. در ۱۸۹۶، پال ارلیخ (Paul Ehrlich) روش اندازه گیری سرم‌ها و زهرها Toxin را پیشنهاد کرد و برای تحقیقاتش موفق به دریافت جائزه نوبل شد.

در قرن نوزدهم، برتو نو Bretonneau (۳) هنگام شیوع دیفتزی در فرانسه و در نتیجه مشاهدات بالینی، بیماری دیفتزی را شرح داد و آن را دیفتزیت نامید و ریشه آن را از مصر دانست. شرح این مرض را در تور آت مقدس و نوشتہ‌های 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 برداشت. در نوشتہ‌های پزشکان اسپانیائی آن دوره شرح مرض دیفتزی آمده است. دیفتزی تنها وبالجان فراواند، بلکه افراد اعیان و خانواده سلطنتی فرانسه نیز از آن در امان نمادند. یکی از کودکان خانواده ناپلئون دیفتزی گرفت و مرد و مرگ او سبب شد که ناپلئون برای تجسس و مداوای این مرض جوازی تعیین کند.

در اوخر قرن نوزدهم میلادی در ممالک فرانسه و آلمان، پزشکان محقق برای پیش گیری و مداوای دیفتزی کوششی پی گیردند. لوفلر (Loeffler) (۱۰) موفق شد که میکروب دیفتزی را جدا و نظریه ماده کشندگان را که از میکروب دیفتزی ترشح میشود، عرضه کند. رو (Roux) و یرسین (Yersin) (۱۴) در سال ۱۸۸۸، زهر دیفتزی را از میکر بش جدا کردن و با تزریق آن به خوک هندی سبب مرگ آن حیوان شدند و نظریه لوفلر با ثبات رسید.

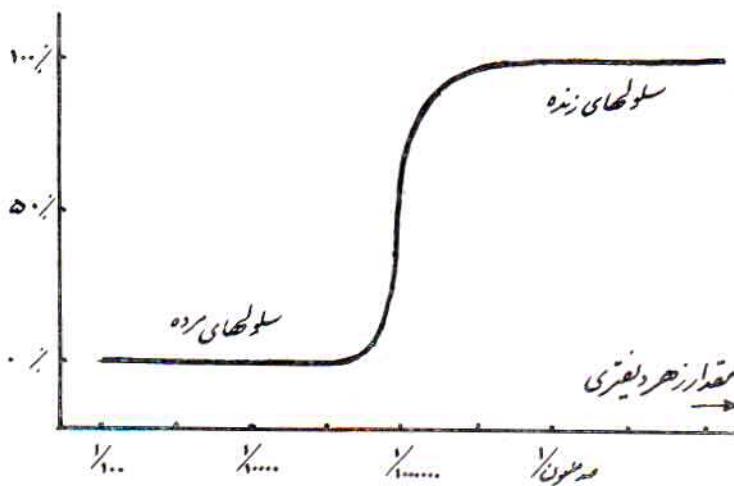
۱- کشف سرم ضد دیفتزی در سال ۱۸۹۰، فرنکل (Fraenkel) (۷) در آلمان بر اثر آزمایشهای که بعمل آورد، پایه تجسسات این قسمت را بینان نهاد و کار او سبب پیدایش سرم دیفتزی شد. فرنکل، میکروب دیفتزی را به حیوانات آزمایشی

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

۳- سرعت اثر زهر و پادزه ر دیفتری

میکروب دیفتری، داخل گلو، بینی، حنجره، درغشاء کاذب و یا حتی زخم پوستی، ذهنی بسیار قوی ترشح میکند که جذب بدن شده با جریان خون به نقاط مختلف بدن رفته برآسایج بدن مخصوصاً اعصاب و قلب اثر میکند و باعث مرگ بعضی از بیماران میشود. اکثر محققین معتقدند که زهر دیفتری آنا 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 دیفتری که سبب مرگ این سلولها میشود تعیین گردید (شکل ۱) و بعد از آن مقدار پادزه و زمانی را که آن پادزه توائی خنثی کردن اثر زهر را دارد بدست آمد (شکل ۲). برخلاف گذشته که گمان میکردیم، زهر دیفتری آنا جذب جدار سلول میشود و بنا بر این خنثی شدنی شدنی نیست، این آزمایشها نشان داد که حتی اگر زهر دیفتری آنا جذب دیواره سلولها شود تا یک ساعت و حتی دو ساعت بعد از آن میتوان اثر کشنده اش را تاحدی خنثی کرد. (گزارش دقیق و روش این آزمایشها در آینده بچاپ میرسد) (۲۰)



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

۴- تأثیر سرم درمداوای دیفتری

مناسفانه عالم پزشکی، اهمیت تجسسات فرنکل، بہرینگ، کیتساتو و ورنیک، و معالجه دختر دیفتری زده آلمانی را در آن موقع درک نکرد تا آنکه سدسال بعد، در سال ۱۸۹۴، رو (Roux) نتیجه مشاهدات بالینی و اثر شفا-دهنده سرم ضد دیفتری 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 با معالجه ۲۱ هزار مريض با سرم ضد دیفتری نتایج مشابهی بدست آورده بودند. در انگلستان در سال ۱۸۹۵، سرم ضد دیفتری را که در فرانسه تهیه شده بود، برای عالجه مبتلايان به دیفتری بکار برداشت و پزشکان انگلیسي مدعی شدند که مرگ دیفتری را از ۳۰ درصد به هفت درصد تقلیل داده اند و مخصوصاً در مداوای دیفتری حنجره (Laryngeal diphtheria)، مرگ از ۶۲ درصد به ۱۲ درصد رسیده است (Parish) (۱۲). هر چند که از اسائل قرن بیستم تا امروز اکثر گزارشها مؤثر بودن سرم ضد دیفتری را تاکید کرده اند ولی در بعضی از این گزارشها همه جواب امر در نظر گرفته نشده است، چنانکه پاریش (۱۲) در آمار خود که در آن ۴۵۰ بودن سرم تاکید شده، کافش تدریجی مرگ در اثر دیفتری را قبل از پیدایش سرم در نظر نگرفته است، بنابر این نتیجه گیری او صحت کامل ندارد. این کم شدن تدریجی که بدان اشاره شد ممکن است در اثر پیدایش این میکروبه (Herd immunity) و یا کم شدن حدت میکروب Virulence و یا تغییر در نوع میکروب دیفتری و یا مقدار ترشح زهر آن باشد (۱۹). دونفر از پزشکان کوبایی (۱۳) سه هزار مريض دیفتری را به سرمه مختلف معالجه کردند (جدول ۱). به گروه اول فقط پنج سیلين دادند،

مقایسه نسبت مرگ در اثر دیفتری که با سه نوع زیر مداوا شده اند (۱۳)

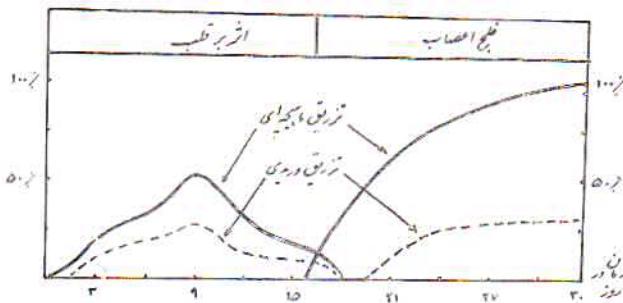
نوع دیفتری	پنی سیلين	پادزه دیفتری	پنی سیلين	پادزه دیفتری
حنجره ای	۲/۲ درصد	۳/۶ درصد	۷/۶ درصد	۰/۰
حلقی	۲۶/۳ درصد	۲۴/۸ درصد	۱۹/۲ درصد	۰/۰

جدول ۱

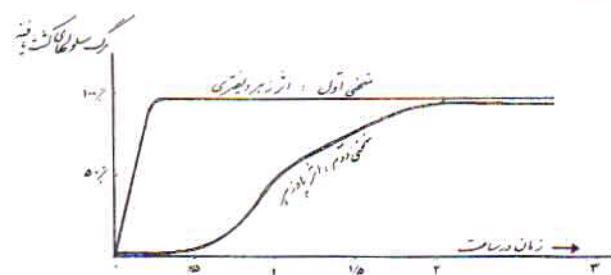
بگروه دوم سرم ضد دیفتری تجویز و برای درمان گروه سوم پنی سیلين و سرم باهم استعمال شد. چنانکه ملاحظه میشود در میان گروهی که فقط پنی سیلين به آنها داده شده بود مرگ کمتر بود. بعضی از پزشکان براین نظر ند که اهمیت مطلق سرم ضد دیفتری هنوز کاملاً ثابت نشده است، ولیکن عاقبت این مرض چنان وحیم است

۴- روش تزریق سرم ضد دیفتری

یک گروه از محققین هلندی (۱۷) آزمایش‌های بسیار در این باره بعمل آوردند. ایشان زهر دیفتری را به خوکه‌ای هندی تزریق کردند و بعد بازرسی سرم ضد دیفتری در ماهیچه و یاورید نشان دادند که: اول - فلچ اعصاب در میان آنهایی که سرم ضد دیفتری را از راه وریدی دریافت کرده‌اند کمتر بوده است. دوم - پیدایش فلچ اعصاب در این گروه دیرتر بوده است. سوم - تعداد کمتری از خوکه‌ای در این گروه به میوکاردیت مبتلا شده‌اند (۲۵ درصد). (شکل ۴). دلیل این مشاهدات معلوم است، اگر سرم ضد دیفتری در ورید زده شود تمام پادزه‌ها در همان وقت تزریق با گردش خون چریان خواهد یافت ولی تمام پادزه‌هایی که در ماهیچه تزریق شود در خون چریان نمی‌یابد و چنانکه (شکل ۵) نشان میدهد در روزهای اولیه تفاوت زیادی مابین این دو روش است. چون در روزهای اول احتیاج به پادزه زیاد است بهتر این است که سرم را از راه ورید تزریق کرد. راه دیگر استعمال سرم، تزریق وریدی و ماهیچه‌ای، باهم است.

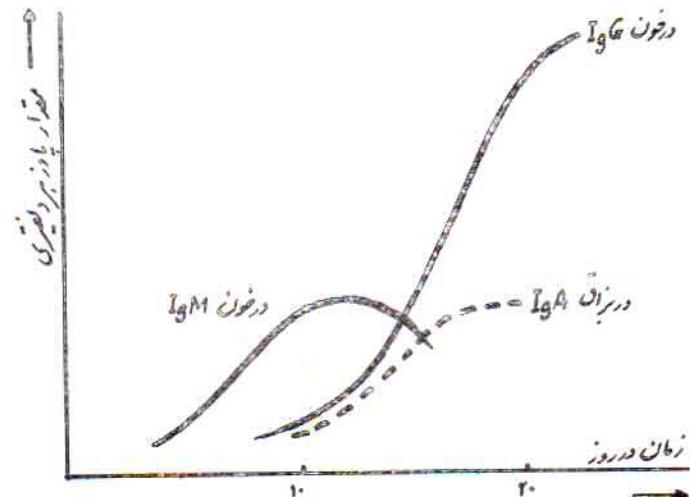


شکل ۴ - تفاوت اثر پادزه دیفتری که از راه وریدی و ماهیچه دیفتری شده‌اند. چنانکه اصطلاحه می‌شود تعداد پادزه میوکاردیت و فلچ اعصاب در حیواناتی که از راه وریدی بهداشت داده شده‌اند کمتر است (۱۷).



شکل ۲ - اثر زهر دیفتری بر سرمهای مختلف کشت شده انسانی HEP2 (منحنی اول) و اثر پادزه دیفتری در خنثی کردن آن. هر چند زهر دیفتری آن جذب جداره سلوکی می‌شود و این در مدت ۲۴ ساعت اول میتوان آثر آن را خنثی کرد و اقلام در صد سالهای را از پادزه دیفتری نجات داد (منحنی دوم) (۲۰).

از سه نوع پادزه‌های (Immunoglobulins) دیفتری، نوع IgM و IgG را در چریان خون، نوع IgA را در برآق دهان، میتوان یافت (۴). اول IgM و بعداز آن IgG پدیدار (شکل ۳) و در همان زمان IgA هم در برآق دهان پیدا می‌شود. ممکن است که IgA ضد دیفتری برای ازبین بردن زهر میکرب دیفتری در محل ترشح آن مؤثر باشد و کسانی که در برابر دیفتری اینمی دارند میتوانند با IgA ضد دیفتری اثر ذهن میکرب را خنثی کرده عوامل دفاعی دیگر میکرب را هم ازبین ببرند. پادزه‌های دیفتری نوع IgG که در خون و هنوز بدیوار سلوکی نرسیده و با تازه تازه درخون جذب شده و هنوز بدیوار سلوکی نرسیده و بیش از این در بهبود بدیواره سلوکی جذب شده‌اند، خنثی میکنند و بیش از این در حقیقت نقش آنها پیشگیری است نه معالجه، بنابراین، بهنگام معالجه عریض طریقه تجویز و مقدار سرم باید چنان باشد که در اسرع وقت قدر فراوان پادزه در چریان خون قرار گیرد.



شکل ۳ - پیدایش سه نوع مختلف پادزه دیفتری (۴ و ۵ و ۶)

شکل ۵ - نمودار مقدار پادزه دیفتری که در ماهیچه و ورید تزریق شده در چریان خون (۱۷)

ورید بمنیض داده شود، سبب بهبود بیمار میشود و فلنج اعصاب کمتر پدید میآید . گزارش دیگری از دانماک (۱۱) نشان میدهد که دوتا چاهارهزار واحد سرم انسانی همانند یافامفیدتر از صدهزار واحد سرم حیوانی است و چنانکه این آثار نشان میدهد، سرم انسانی در معالجه دیفتری شدید، مفیدتر از سرم حیوانی است، نکته مهم آنکه این سرم را از راه وریدی تزریق کردنداند. 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 ۲۱)

چون نتیجه این آزمایش‌ها با گزارش‌های بالا تطبیق نمیکرد، آزمایشهای روی سلولهای انسانی انجام و اثر پادزهار انسانی با پادزهار حیوانی (اب) 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 نتائج این آزمایش‌ها با نظرات دانمارکی‌ها و آقای دکتر سیادات صحیح نباشد زیرا نظرات ایشان بر مبنای «زرق داخل وریدی» پادزهار انسانی است و شاید نتیجه اصلًاً بنوع سرم بستگی نداشته و مر بوط به روش تزریق آن باشد . اگرچنین باشد نتیجه آزمایش‌های تاسمن و همکارانش تأیید میشود .

۷- عاقبت سرم تزریق شده

اگر پادزهار دیفتری را از خر گوشی تهیه و آن را به خر گوش دیگری که در برابر دیفتری اینمی ندارد تزریق کنیم ، این پادزهار بیش از پنجاه روز در چریان خون خر گوش دوم باقی خواهد بود و با او اینمی خواهد بخشید. در شکل ۶ منحنی (۱) وجود پادزهار هم جنس و مقدار آن را در روزهای بعد از تزریق نشان میدهد . ولی اگر پادزهار را از اسب تهیه کرده به خر گوشی که به دیفتری مبتلا نشده و اینمی نیافته است تزریق کنیم ، چون این پادزهار اسپی ماده‌ای خارجی است زود ازین میرود، بنابراین مصونیتی که پادزهار غیرهم جنس بخر گوش میدهد زیاد طول نمیکشد و بعد ازده تا بیست روز تمام میشود (منحنی دو در شکل ۶).

اگر سرم اسب برای بار دوم به خر گوش تزریق شود ، چون خر گوش قبلًاً با سرم اسب آشناست یافته و پادتن بر ضد آن درست کرده است، پادزهار دیفتری که از اسب تهیه شده و در دفعه دوم به او تزریق شده است بسرعت از بین میرود (منحنی سه در شکل ۶). بنابراین، مزیت دیگر سرم انسانی بر سرم حیوانی اینمی بخشیدن بمدت طولانی است اگرچه 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 بعداز نیم ساعت پادزهار تزریق را در بزاق دهان میتوان یافت، درصورتیکه اگر سرم را در ماهیچه تزریق کنیم پیدایش پادزهار در بزاق به تأخیر میافتد و گاهی ممکن است ندروز طول بکشد. چون منظور عانتها 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 .

۸- مقدار سرم تزریقی
مقدار تزریقی سرم ضد دیفتری از دههار تا صدهزار واحد است و بهمن مریض، و خامت حال او، شدت مرض و نظر پزشک معالج بستگی دارد . اگر مرض شدید و یا دیفتری به حنجره رسیده باشد در حدود صدهزار واحد سرم به مریض زده میشود . در هندوستان که مرض دیفتری چون امراض عفونی نیز دیگر شایع است مقدار سرم تزریقی بستگی به شدت مرض دارد ، (جدول ۲). ولیکن یکی از پزشکان همان دیوار (۸) مدعی شده است که دههار واحد سرم دیفتری زعرهای موجود در جریان خون را خنثی میکند. گاندی (۸) یک گروه از بیماران را با بیست هزار واحد و گروه دیگر را با صدهزار واحد سرم معالجه کرد و تفاوتی بین آنها نداند و پیشنهاد ۲۰ هزار واحد کافی است . تاسمن Tasman (۱۷) داد که اگر این مقدار سرم در ورید تزریق شود در مدت نیم ساعت پادزهار دیفتری در بزاق دهان پیدامیشود و اثره محلی نیز خواهد داشت.

مقدار سرم ضد دیفتری (اسبی) که در هندوستان بکارهیبر ند (۶)

نوع دیفتری	مقدار سرم تزریقی (واحد)
بینی	بیست هزار
یک لوزه	بیست هزار
لوزه زین	چهل هزار
لوزه و حلق	دشت هزار
حنجره	چهل و اصدھزار
و خیم با قورم شدید غدد گردن	صدھزار

جدول ۴

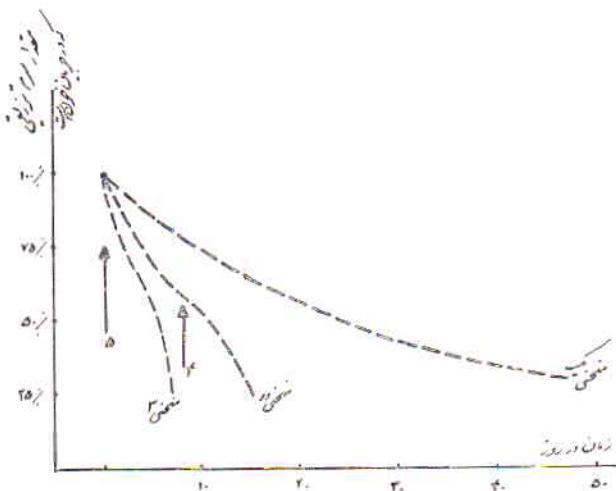
۹- سرم انسانی یا سرم حیوانی
در سال ۱۹۶۶ میلادی، گروه متخصصین سرم شناس بهداشت جهانی (۱۸) گزارش دادند که بر اثر کمی اطلاعات علمی نمیتوان درباره ارزش سرم ضد دیفتری انسانی قضاوت کرد، ولی در تابستان سال ۱۳۴۸ شمسی ، آقای دکتر سیادات (۱۵) در یک سخنرانی اطهار داشتند که سرم انسانی، حتی اگر مقدار پادزهار دیفتری آن کم باشد واز راه

دیفتری مخصوصاً اگر این سرم از راه وریدی تزریق شود قبل از 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 گاما گلوبلین ها Gammaglobulins را برای تزریق تهیه کنیم حجم آن (یک پنجم حجم اولی) کمتر می شود و امکان انتقال ویروس هپاتیت عفونی تسریب آیا از بین میروند، متأسفانه مشکل جدیدی پیش می آید، به این ترتیب که در اثر تصفیه و تغییل سرم، گاما گلوبلین های انسانی بهم می چسبند و اگر از راه وریدی تزریق شوند ممکن است سبب عکس العمل شدید و حتی مرگ شود.

نتیجه :

- ۱- اکثر بیشکان بر آنند که سرم ضد دیفتری اگر نتوانند زهرهای جذب سلول شده را خنثی کند، اقلام زهرهای دیفتری را که در خون در جریان نند و بنا توسط میکروب دیفتری ترشح می شوند خنثی و از آسیب بیشتر جلو گیری می کند.
- ۲- مهم ترین 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 درخون جریان یابد.
- ۴- مقدار سرم تزریقی بستگی به شدت مرض و نظر پزشک دارد و از بیست هزار تا صد هزار واحد متغیر می باشد.
- ۵- هر چند برتری اثر سرم انسانی بر حیوانی ثابت نشده است، ولی سرم انسانی با وجود هزایای دیگر آن، آینده خوبی دارد.

تشکر : در خاتمه از بنیاد پزشکی ولکام پروفسور مکن تگارت و آفای دکتر معتمدی رئیس دانشگاه اصفهان و آقایان دکتر کامبیز حادقی و دکتر میرشمی و دکتر استرآبادی (استیتو رازی طهران) و آفای دکتر سیادت، (بیمارستان فیروزآبادی) و آفای دکتر مولوی (بیمارستان پهلوی) و آفای دکتر ظریفی رئیس آزمایشگاه رف انس، تشکر می کنم. بدون کمک های ایشان تحقیقات این جانب درباره پادزهر دیفتری و جنبه های دیگر این مرض ممکن نمی بود.



شکل ۶ - نتیجه از عمر پادزهر هم جنس و غیرهم جنس

منجني یاک - پادزهر هم جنس غیر طولانی دارد و تا ۵۰ روز اینسته می بخشد.
منجني دو - پادزهر غیرهم جنس مابین ده تا بیست روز اینسته می بخشد
منجني سه - پادزهر غیرهم جنس، که در اثر آشنا لی قبلی حیوان بدان، سرعت از بین میروند.

خط چهار - امکان بروز حساسیت سرمی در اثر تزریق سرم غیرهم جنس
خط پنجم - امکان بروز عکس العمل شدید ANAPHYLAXIS در اثر تزریق قبلی سرم غیرهم جنس وجود پادزهر بر ضد سرم غیرهم جنس

۸- مشکلات درهان با سرم

- الف - سرم غیرهم جنس Heterologous antiserum:** هر چند که سرم ضد دیفتری اسبی در مداوای عرض دیفتری مفید است ولی دو سه ای را در آن وارد است. اول : پادزهر اسبی ماده ای خارجی است و بدن انسان با فعالیت تمام آن را از بین می برد (شکل ۶ منجني ۲). دوم : بعد از یک هفته بدن انسان بر ضد سرم اسب پادتن می سازد که ممکن است درین از بین بردن سرم اسب، اثر بدی در بدن بگذارد Serum sickness (حساسیت سرمی) : شکل ۶ خط ۴. سوم : در آینده نمی توان 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 خوش تر است که راه بهتری پیدا کرد.
- ب - سرم های دیگر :** در صورت وقوف بوجود حساسیت بسرم اسبی ممکن است در صورت دسترسی، از سرم ضد دیفتری که از بز و گوسفند تهیه شده است 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. Epidemiol. 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.