

ایمونوفلوئورسانس وسیله‌ای برای تشخیص مرحله فعال بیماری بروسلوز

دکتر شهناز رفیعی*

مقدمه

کمک کنیم از این جهت پیشنهاد استفاده از روشی را مطرح ساخته ایم که سریعتر و راحت تر تشخیص بیماری را مشخص و ارزیابی میکند .

مواد و روش ها :

سرم - از ۵ بیمار مبتلا به تب مالت (۲۳ زن و ۲۷ مرد) سرم تهیه شد تشخیص بالینی توسط پزشک متخصص برحسب علائم بالینی و آزمایشهای سرولوژیکی گذاشته شده بود .

روشها :

الف - آگلوتیناسیون استاندارد Standard Tube Test (STT) یا آزمایش راییت طبق روش Hausler و Koontz (5) انجام شد .

ب - کومبس راییت با استفاده از آنتی سرم ضد گلوبولین انسانی AHG - بر روی تمام نمونه ها ابتدا تست آگلوتیناسیون استاندارد و سپس آنها AHG افزوده و کومبس راییت انجام گردید (۸) .

ج - 2ME آگلوتیناسیون با استفاده از روش (۳) تغییر یافته Buchman برای اطلاع دقیق از این روشه

تب مالت یا بروسلوز بیماری مشترک انسان و دام که بصورت اندمیک در بسیاری از نقاط کشور مایده میشود . مسئله حادی از نظر تشخیص ، درمان و پیش آگهی ایجاد کرده است که توجه بهر یک از قسمت های فوق قدمی است با ارزش در جهت حفظ ارزش های مادی و سرمایه های کشور ، چه صدمه اقتصادی ناشی از آلودگی حیوان و از طرفی حذف نیروی بارور و کارآمد بیماری میتواند دست آویزی باشد برای بررسی هرچه بیشتر این بیماری .

از آنجاکه بروسلوز میتواند بیماری مزمنی باشد یعنی در صورت عدم درمان و گاه با درمان نامناسب و یا واکنش های خاص بدن مبتلایان ، دچار ازماد گردد ، شناسایی این گروه از بیماران که مرض در آنها خاموش است و یا آنکه دچار عود شده و برگشته است بعبارت بهتر تشخیص فرم فعال بیماری از شکل غیر فعال آن اهمیت حیاتی برای پزشک بیماریهای عفونی و در بسیاری از موارد برای تمام اطباء میهن ما دارد . چه بارها در مقابل سؤال لاینحل آیا درمان بکنم یا نه ؟ قرار میگیرد . هدف این بررسی اشاره به علائم بالینی و استفاده از روشهای درمانی و اختصاصی نیست که به آسانی آنرا در بسیاری از کتب و مقالات میتوان یافت .

عمده نظر ما این بوده است که به پزشک در تشخیص

* گروه میکروشناسی و ایمنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران .

فلوئورسانس عیار بالاتر IgG در فلوئورسانس را نسبت به 2ME فلوئورسانس بخوبی میتوان دید . جدول شماره ۱- این مطلب را با جزئیات بیشتر نشان میدهد : ۴۲ نمونه از ۵۰ سرم مورد آزمایش در هر دو روش مثبت بوده‌اند یعنی دارای مقداری از IgG بوده‌اند . درسه مورد 2ME فلوئورسانس منفی بوده است حال آنکه در سرم IgG وجود داشته است . در ۳۰ مورد (۶۰٪) عیار IgG در سرم بالاتر از روش 2ME فلورسانس بوده است این امر امکان اثر 2ME بر روی ملکول IgG را مطرح می‌کند حال آنکه قاعدتا فقط باید روی ملکول IgM اثر بگذارد .

جدول شماره ۲- تست آگلوتیناسیون 2ME را با روش 2ME فلوئورسانس مقایسه می‌کند (مقادیر IgG و IgM فلوئورسانس و 2ME آگلوتیناسیون) .

در اینجا ۲۱ نمونه بعد از اثر 2ME وجود IgM را بروش فلوئورسانس نشان می‌دهند که ۱۱ مورد آن عیار پائین‌تر از $\frac{1}{40}$ داشته‌اند و در نتیجه منفی گزارش شده‌اند . و ۱۰ نمونه عیار مثبت داشته‌اند .

این یافته احتمال وجود دو مطلب را القا میکند . الف - 2ME نمی‌تواند تمام IgM موجود در محیط را احیاء کند .

ب - IgM منومر حاصل از 2ME قادر است در روش ایمونوفلوئورسانس وارد عمل شود .

جدول شماره ۳- مقادیر ایمن گلوبولین‌ها را در دو روش 2ME آگلوتیناسیون و 2ME ایمونوفلوئورسانس بر حسب جنس بیماران نشان میدهد . در این جدول میتوان افزایش عیار IgG را بروش ایمونوفلوئورسانس حتی پس از اثر 2ME به نسبت روش 2ME آگلوتیناسیون ملاحظه کرد . در ۵۰ نمونه مورد آزمایش ۲۳ مورد عیار آنتی بادی در روش 2ME آگلوتیناسیون کمتر از تکنیک ایمونوفلوئورسانس بوده است و این نمودار حساسیت بیشتر روش ایمونوفلوئورسانس نسبت به آگلوتیناسیون است . جدول شماره ۴- نمودار مقایسه‌ایی است از عیارهای IgG در روش فلوئورسانس و عیار حاصل از تست رایت آگلوتیناسیون استاندارد که مقادیر بالای تیترهای IgG را در این روش میتوان دید . جدول شماره ۵- مقدار IgM را که بروش فلوئورسانس اندازه‌گیری شده است و امکان بررسی بروش رایت آگلوتیناسیون وجود ندارد و در حقیقت با استفاده از روش ایمونوفلوئورسانس با کنژوگه اختصاصی عملاً "دو تکنیک

مقاله همین مؤلف (۱۳) مراجعه فرمائید .

دال - روش ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم I - آنتی ژن - از سوش بروسلا آبورتوس که بر روی ژلز خوندار کشت داده شده است بعد از ۴۸ ساعته سوسپانسیون ۵٪ تهیه کرده ، گسترشی از آن بر روی لام شیشه ای فراهم کرده با حرارت ثابت (FIX) نمودیم .

II - با فرسفات با $PH=7.2$ مجموعه‌ایی از فسفات دی سدیک ، منوسدیک و نمک طعام .

III - کنژوگه فلوئورسانس آنتی هیومن گلوبولین - اختصاصی برای IgG و IgM انسان که به ایزوتیوسیانات فلورسیئن کنژوگه شده است . در این روش از رقت $\frac{1}{40}$ این کنژوگه ها استفاده گردید .

IV - گلیسرین تامپونه .

گلیسرین دوبار تقطیر شده $50^{\circ}C$ ، مجموعه فسفات دی سدیک و منوسدیک $100^{\circ}C$ روش کار تکنیک استاندارد ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم است (۱۰) .

با این تفاوت که آزمایش در چهار سری صورت می‌گیرد .

a - سرمهای رقیق شده با فرسفات را در مجاورت کنژوگه ضد IgG قرار میدهم .

b - سری دوم از سرم ها را که مانند ردیف اول رقیق شده‌اند با کنژوگه ضد IgM مجاور می‌کنیم .

c - ردیف سوم حاوی سرم هایی است که قبلاً "تحت اثر 2ME قرار گرفته‌اند و با کنژوگه ضد IgM مجاور میشوند .

d - ردیف چهارم سرم های احیاء شده با 2ME را با آنتی گلوبولین کنژوگه ضد IgM مجاور می‌کنیم .

از این پس از این دو ردیف آخر بعنوان تست 2ME فلوئورسانس یاد می‌کنیم .

بعد از آخرین شستشو و افزودن تامپون گلیسرین لامها زیر میکروسکپ فلوئورسانس خوانده میشوند .

نتایج :

جداول و تابلوهای زیر نتایج را مورد بررسی قرار میدهند .

هیستوگرام شماره ۱- مقایسه‌ایی از عیار IgG در سرم و بعد از اثر 2ME در همان سرم را نشان میدهد بعبارت بهتر قیاسی است بین عیار IgM ایمونوفلوئورسانس و 2ME بروش

مجموعه‌ایی از ایمن گلوبولین‌های مختلف است، انتظار می‌رود که عیار آگلوتیناسیون در همه موارد بالاتر باشد. نکته جالب توجه این است که در سه مورد حتی عیار Igm از تیترا بدست آمده در روش رایت بالاتر است و این امر نیز دلیل دیگری بر افزایش حساسیت روش فلوئورسانسیر سایر روشهای معمول می‌باشد. در تمام جداولی که جنس بیماران مورد بررسی قرار گرفته است دیده می‌شود که از نظر آماری این فاکتور ارزش مشخصی ندارد.

رایت استاندارد و 2ME در هم ادغام میشوند. جدول شماره ۶- تست رایت استاندارد با فلوئورسانس بر حسب جنس بیماران نشان داده شده است و به جزئیات دیده می‌شود که از ۵۰ بیمار که همگی دارای رایت مثبت بوده‌اند هیچ‌یک در روش فلوئورسانس منفی نشده‌اند بنابراین منفی کاذب در روش فلوئورسانس دیده نمی‌شود. در ۱۴ مورد هر دو روش، عیارهای یکسان داشته‌اند (۲۸٪) موارد در ۱۲ مورد Igg فلوئورسانس به تنهایی بالاتراز عیار آگلوتیناسیون بوده است (۲۴٪). با توجه باینکه عیار حاصل در آزمایش رایت

بنابراین مقادیر حاصل از روش 2ME دقیق نیست (جدول شماره ۱).

جدول ۱ - میزان پراکندگی تیتراهای Igg در تست 2ME و IF نسبت به یکدیگر

2ME (Igg) IF (Igg)	Neg	۱۰	۲۰	۴۰	۸۰	۱۶۰	۳۲۰	۶۴۰	۱۲۸۰	۲۵۶۰	جمع
Neg											
۱۰											
۲۰	۱										۱
۴۰				۲	۱						۳
۸۰	۱		۱	۴	۳	۲					۱۲
۱۶۰		۱			۵	۱		۱			۸
۳۲۰					۲	۴	۵				۱۱
۶۴۰	۱					۳	۲	۱			۷
۱۲۸۰									۳		۳
۲۵۶۰									۱	۱	۳
جمع	۳	۱	۱	۶	۱۱	۱۱	۷	۶	۱	۳	۵۰

جدول ۲ -

۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱
۴۰	۶۴۰	۱۶۰	۸۰	۱۲۸۰	۸۰	۳۲۰	۱۶۰	۸۰	۳۲۰	۱۶۰	۱۶۰	۱۶۰	۲۵۶۰	۱۶۰	۸۰	۸۰	۲۰	۸۰	۶۴۰	۸۰
۳۲۰	۲۵۶۰	۱۶۰	۴۰	۲۵۶۰	۴۰	۲۵۶۰	۸۰	۱۶۰	۶۴۰	۶۴۰	۶۴۰	۶۴۰	۶۴۰	۸۰	-	۱۶۰	۳۲۰	۱۶۰	۸۰	۶۴۰
از 2ME																				
۱۰	۸۰	۱۰	۲۰	۴۰	۱۰	۴۰	۱۰	۸۰	۱۰	۲۰	۱۶۰	۴۰	۶۴۰	۶۴۰	۳۲۰	۲۰	۲۰	۱۰	۲۰	۸۰
از 2ME																				

جدول ۳ - مقایسه کلی مقادیر IgG در دو روش "آگلوتیناسیون با 2ME" و "فلورسانس با 2ME"

شماره	جنس	(IgG) 2ME آگلوتیناسیون	(IgG) 2ME فلورسانس	شماره	جنس	(IgG) 2ME آگلوتیناسیون	(IgG) 2ME فلورسانس
۱	F	۴۰	۱۰	۲۶	F	۱۶۰	۶۴۰
۲	F	۸۰	۴۰	۲۷	M	۱۶۰	۶۴۰
۳	M	۴۰	-	۲۸	M	۸۰	۸۰
۴	M	۴۰	۳۲۰	۲۹	M	۴۰	۸۰
۵	F	۶۴۰	۲۵۶۰	۳۰	M	۴۰	۳۲۰
۶	M	۱۶۰	۱۶۰	۳۱	F	۲۰	۱۶۰
۷	M	۱۶۰	۱۶۰	۳۲	M	۳۲۰	۶۴۰
۸	F	۸۰	۴۰	۳۳	M	۳۲۰	۸۰
۹	M	۱۲۸۰	۲۵۶۰	۳۴	M	۲۵۶۰	۶۴۰
۱۰	F	۴۰	۱۶۰	۳۵	M	۱۶۰	۸۰
۱۱	M	۱۶۰	۱۶۰	۳۶	M	۱۶۰	۸۰
۱۲	M	۱۶۰	۸۰	۳۷	F	۸۰	-
۱۳	M	۱۶۰	۸۰	۳۸	M	۴۰	۳۲۰
۱۴	F	۱۶۰	۳۲۰	۳۹	F	۸۰	۱۶۰
۱۵	F	۱۶۰	۳۲۰	۴۰	M	۲۰	۳۲۰
۱۶	M	۸۰	۴۰	۴۱	M	۸۰	۱۶۰
۱۷	F	۳۲۰	۲۵۶۰	۴۲	F	۱۶۰	۱۶۰
۱۸	M	۱۶۰	۸۰	۴۳	M	۶۴۰	۱۶۰
۱۹	F	۴۰	۲۰	۴۴	F	۶۴۰	۸۰
۲۰	F	۴۰	۴۰	۴۵	M	۱۶۰	۱۶۰
۲۱	M	۸۰	۱۶۰	۴۶	F	۸۰	۶۴۰
۲۲	F	۱۶۰	۸۰	۴۷	F	-	۳۲۰
۲۳	F	۳۲۰	۶۴۰	۴۸	M	۳۲۰	۸۰
۲۴	M	۳۲۰	۱۲۸۰	۴۹	F	۴۰	۴۰
۲۵	F	۱۶۰	-	۵۰	F	۲۰	۴۰

جدول ۴ - میزان پراکندگی تیتر IgG تست فلورسانس در مقایسه با آزمون رسمی رایست

تیتر آزمون رسمی رایست

IF ^R (IgG)	۸۰	۱۶۰	۳۲۰	۶۴۰	۱۲۸۰	۲۵۶۰	۵۱۲۰	جمع
Neg								
۱۰								
۲۰		۱						۱
۴۰		۱		۱			۱	۳
۸۰	۲	۳	۲	۲	۲	۱		۱۲
۱۶۱	۱	۱	۱	۴	۱			۸
۳۲۰		۲	۸		۱			۱۱
۶۴۰		۱	۳	۱	۱	۱		۷
۱۲۸۰				۲			۱	۳
۲۵۶۰				۳		۲		۵
جمع	۳	۹	۱۴	۱۳	۵	۴	۲	۵۰

جدول ۵ - میزان پراکندگی تیتر IGM تست فلورسانس در مقایسه با آزمون رسمی رایبست .

IF ^R (IgM)	۸۰	۱۶۰	۳۲۰	۶۴۰	۱۲۸۰	۲۵۶۰	۵۱۲۰	جمع
Neg	۱	۲	۲	۳		۱		۹
۱۰	۲	۱	۱	۳	۱			۸
۲۰		۳	۳	۱	۲		۱	۱۰
۴۰			۳	۴		۱		۸
۸۰			۳	۲		۱		۶
۱۶۰		۱				۱		۲
۳۲۰		۲	۱		۲			۵
۶۴۰								-
۱۲۸۰		۱					۱	۲
۲۵۶۰								-
جمع	۳	۹	۱۴	۱۳	۵	۴	۲	۵۰

جدول ۶-

شماره	جنس	آزمون راییت آگلوتیناسیون	فلورسانس IgG	فلورسانس IgM	شماره	جنس	آزمون راییت آگلوتیناسیون	فلورسانس IgG	فلورسانس IgM
۱	F	۸۰	۱۰	۱۶۰	۲۶	M	۶۴۰	۲۵۶۰	۸۰
۲	M	۳۲۰	۶۴۰	۳۲۰	۲۷	M	۱۲۸۰	۸۰	۲۰
۳	F	۸۰	۸۰	۱۰	۲۸	M	۱۶۰	۸۰	۲۰
۴	M	۲۵۶۰	۶۴۰	۱۶۰	۲۹	M	۳۲۰	۳۲۰	۴۰
۵	F	۲۵۶۰	۲۵۶۰	۸۰	۳۰	F	۱۶۰	۶۴۰	۱۶۰
۶	M	۱۶۰	۳۲۰	-	۳۱	M	۶۴۰	۱۲۸۰	۲۰
۷	M	۳۲۰	۶۴۰	۲۰	۳۲	M	۶۴۰	۱۶۰	۱۰
۸	F	۶۴۰	۴۰	۴۰	۳۳	M	۵۱۲۰	۱۲۸۰	۱۲۸۰
۹	M	۲۵۶۰	۲۵۶۰	-	۳۴	M	۳۲۰	۳۲۰	-
۱۰	F	۱۶۰	۱۶۰	۱۰	۳۵	M	۳۲۰	۱۶۰	۱۲۸۰
۱۱	M	۶۴۰	۶۴۰	-	۳۶	F	۱۶۰	۲۰	۳۲۰
۱۲	M	۶۴۰	۸۰	۴۰	۳۷	M	۳۲۰	۶۴۰	۲۰
۱۳	F	۶۴۰	۱۶۰	۴۰	۳۸	F	۳۲۰	۳۲۰	۴۰
۱۴	F	۱۲۸۰	۳۲۰	۲۰	۳۹	M	۳۲۰	۳۲۰	-
۱۵	M	۳۲۰	۸۰	۴۰	۴۰	M	۳۲۰	۳۲۰	۸۰
۱۶	F	۶۴۰	۲۵۶۰	-	۴۱	M	۶۴۰	۸۰	۸۰
۱۷	M	۳۲۰	۳۲۰	۸۰	۴۲	F	۱۶۰	۸۰	۲۰
۱۸	F	۸۰	۸۰	-	۴۳	M	۱۲۸۰	۸۰	۱۰
۱۹	F	۱۶۰	۴۰	-	۴۴	F	۵۱۲۰	۴۰	۲۰
۲۰	M	۱۶۰	۳۲۰	۳۲۰	۴۵	M	۳۲۰	۳۲۰	۲۰
۲۱	F	۶۴۰	۱۶۰	۱۰	۴۶	F	۱۲۸۰	۱۶۰	۳۲۰
۲۲	F	۶۴۰	۱۲۸۰	۴۰	۴۷	F	۳۲۰	۳۲۰	۸۰
۲۳	M	۶۴۰	۲۵۶۰	-	۴۸	M	۶۴۰	۱۶۰	۱۰
۲۴	F	۲۵۶۰	۸۰	۴۰	۴۹	F	۳۲۰	۸۰	۱۰
۲۵	F	۱۲۸۰	۶۴۰	۳۲۰	۵۰	F	۱۶۰	۸۰	۲۰

بحث:

بطور مقدماتی ذکر میشود که در جریان بروسوز، مانند بیماریهایی دیگر چند نوع آنتی بادی قابل اندازه گیری است که دو نوع آن از نظر تشخیص اهمیت بیشتری دارد IgG و Igm، (۱۲، ۲، ۶) حضور Igm در ابتدای بیماری دلیل بر ابتلا تازه بیمار به عفونت است و پس از آن همراه با Igg دیده میشود (۹) پس از درمان Igg بتدریج پائین می آید و عملاً "ناپدید می گردد ولی Igm تا مدتی در جریان خونی باقی می ماند و در این مرحله است که تشخیص دچار اشکال می گردد" آیا بیماری فعال است و احتیاج به درمان دارد؟

استفاده از روشهای آگلوتیناسیون به تنهایی این مشکل را حل نمی کند و استفاده از 2ME (همانطور که در گزارش قبلی ذکر شد) (۱۳) روش با ارزشی است که حضور Igg را به تنهایی نشان داده کمی به روند درمان میکند. ولی مثل هر تکنیک دیگری دارای معایبی است در کنار محاسن شمرده شده که برای اجتناب از آنها میتوان روش پیشنهادی و بکار گرفته شده در بخش ایمونولوژی دانشکده پزشکی را مورد استفاده قرار دهد یعنی استفاده از روش ایمونوفلوئورسانس با کنژوگه اختصاصی ضد تحت کلاسه های ایمن گلوبولین

نتایج بدست آمده در این بررسی نشان میدهد که استفاده از روش ایمونوفلوئورسانس بدلائیل زیر ارجح است.

۱- استفاده از روش آگلوتیناسیون استاندارد (STT) به تنهایی هرگز کافی نبوده است و به علت اشتباهاتی که وجود آنتی بادیها ناکامل یا بلوکان در عمل پیش می آورد (۱) استفاده از آنتی بادی ضد گلوبولین های انسان یا روش کومبس رایت مطرح شده است (۴) با کارگیری تکنیک ایمونو-فلورسانس و بسا کنژوگه توتال یعنی آنتی بادی برای تمام تحت کلاسه های ایمن گلوبولین که به فلورسانس متصل شده است، برای این مشکل یعنی وجود پدیده منطقه ایی میتوان غلبه کرد و نیازی به انجام تست های اضافی نیست (۴).

۲- کاربرد ایمونوفلوئورسانس عیارهای بالاتری از آنتی بادی را نشان میدهد (جدول شماره ۴) که در تشخیص بیماری به پزشک یا وری می کند.

۳- استفاده از روش ایمونوفلوئورسانس با بکارگیری کنژوگه اختصاصی ضد هریک از تحت کلاسه های ایمن گلوبولین (Igm یا Igm).

اولاً "تشخیص مرحله فعال را از غیر فعال بیماری با یک تست و در یک زمان آسان میکند.

ثانیاً "عیارهای بالاتری از Igg و Igm نسبت به روش آگلوتیناسیون حتی کومبس رایت میدهد.

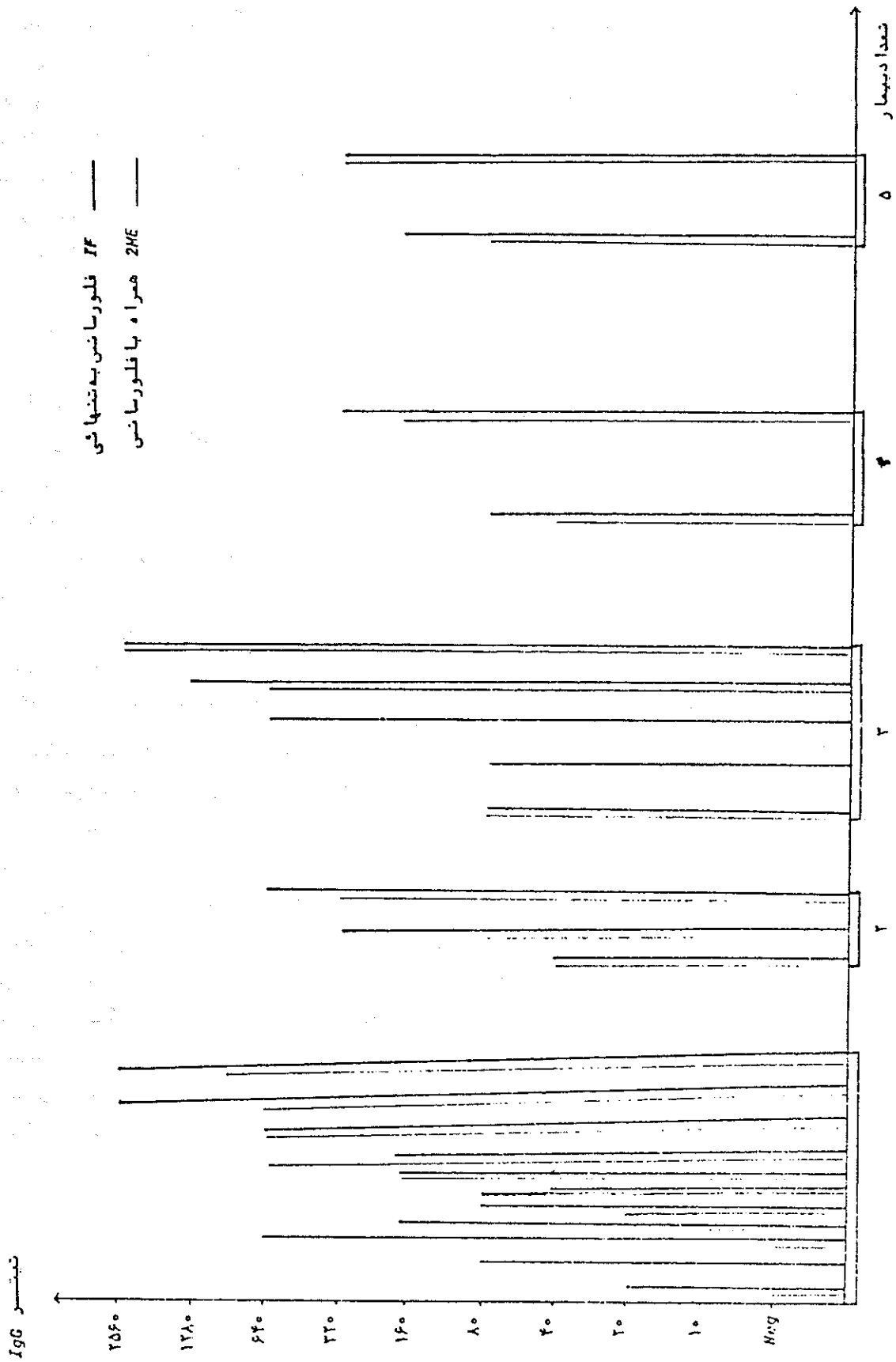
ثالثاً "این صحیح است که 2ME بخاطر خاصیت

احیا کنندگی میتواند در تفکیک نوع آنتی بادی (حذف Igm از محیط و باقی گذاردن Igg) کمک موثری باشد ولی (جدول شماره ۲) نشان میدهد که 2ME خود مسئله ساز باشد زیرا امکان پدیده منطقه ایی با بکار بردن آن از بین نرفته و عیارهای آنتی بادی بعد از اثر 2ME ممکن است مقادیر واقعی آنها را نشان ندهد زیرا که روش 2ME یک روش آگلوتیناسیون است و به همین دلیل سرمهایی که بعد از اثر 2ME بروسوز فلورسانس بررسی شده اند عیار بالاتری داشته اند.

رابعاً "مایع رویی لوله های حاوی 2ME هم چنان دارای Igm است که به روش فلورسانس قادر به تشخیص آن بوده ایم (جدول ۳).

میتوان گفت که 2ME قادر نیست تمام Igm موجود را احیاء کند.

خامساً "همین مایع رویی حاوی Igg کمتری بوده که در روش فلورسانس مشخص گردیده است و این نشان میدهد، که Igg هم احتمالاً "تحت اثر 2ME قرار می گیرد.



نمودار افزونی لیزرهای IgG در آزمون فلورسانس نسبت به بکارگیری 2ME همپن آزمون

REFERENCES

- 1) Bascoul S. (1984), Two Sensitive Assays for the detection of anti Brucella antibodies Dev. Biol. Scan. 56: 441-5.
- 2) Buchanan T.M. (1982), Cecil Text Book of Medicine, 16th Edition p: 1614-8.
- 3) Buchman T.M. (1980), 2Me Brucella agglutination Test. J. Of Clinical Microbiol 11: 691-3.
- 4) Hall S.M. (1984) Detaction of Serum Antibody to Brucella Abortus in cattle, by use of a quantitative fluometric Immunoassay J. of Clin. Microbiology Dec. 1023-27.
- 5) Hausler W. Koontz (1970), Brucellosis, Mycotic and parasitic infection p; 374-5.
- 6) Hershberg S. (1971), Immunoglobulins in Bruceliosis J.A.M.A. 218: 741.
- 7) Edwar ds Joan (1970), Comparison of the indirect fluroscent antibody test with agglutination. J.Clin. Path. 23: 161-5.
- 8) Kerr W.R. (1966). The laboratory diagnosis of chronic Brucellosis Lancet 2: 1181-3.
- 9) Robetson L. (1980), Bench book on Brucalla a Public Health Laboratory Service monograph Series. 14: London H.M.S.O.
- 10) Weir D.M. Immunochemistry, Immunofluorescent P: 18.1-18.19. (1986
- 11) Spink W. Medical Microbiology (1981) 320-323.

دکتر اسماعیل صائبی

۱۲ - بیماریهای عفونی در ایران بیماریهای باکتریال

دکتر رفیعی -

۱۳ - کاربرد ۲ مرکا یسواتا نول در تشخیص آزمایشگاه هی و بررسی سیر درمان بروسلوز

کریمی

مجله دانشکده پزشکی (۱۳۶۵) صفحه ۷۷