المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٥، العدد ١، ٢٠١١ (٢٣-٢٧)

التغيرات في بعض المعايير الكيموحيوية المرافقة للاصابة بداء البروسيلوسز في المعز المحلي

سامح هدايت ارسلان*، نبيل احمد الحصري، قيس طالب العبيدي* و مدركة محمود حسن***

*فرع الطب الباطني والوقائي، **فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والادوية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الاستلام ١٧ تشرين الثاني ٢٠٠٩؛ القبول ١٥ نيسان ٢٠١٠)

الخلاصة

استهدفت الدراسة معرفة التغيرات في بعض المعايير الكيموحيوية المرافقة للإصابة الطبيعية بداء البروسيللوسز في المعز المحلي، تم فحص ١٠٢ عينة مصل مثلت ٣٩٦ رأسا من المعزالمحلية من مناطق مختلفة من مدينة الموصل بأستخدام أختبارات وردية البنكال و الاليزا غير المباشر والتلازن الانبوبي، اظهرت النتائج أن النسبة الكلية لتواجد اضداد البروسيللوسز في المعز بأستخدام أختباري وردية البنكال و الاليزا غير المباشر بلغت (٦.٨% و٢٤.٥%) على التوالي، وكانت معايير الاضداد باستخدام اختبار التلازن الانبوبي للعينات الموجبة لاختبار وردية البنكال مابين (١/٨٠ -١/٦٤٠)، في حين كانت معايير الاضداد للعينات الموجبة لاختبار الاليزا غير المباشر مابين (١/٤٠ -١/٦٤٠)، وبينت النتائج حدوث ارتفاع معنوي في انزيم الاسبارتات ناقلة الامين AST، وانزيم الالنين ناقلة الامين ALT، وانزيم نازعة هيدروجين اللاكتات LDH، وانزيم الفوسفاتاز القلوي ALP، كما لوحظ ارتفاع معنويا في نسبة تركيز الكلوكوز، والبيلروبين الكلي والمباشرTotal bilirubin and Direct، وثلاثي الكلسريد triglycerides والكولسترول cholesterol، مع انخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي والالبومين albumin في عينات الامصال الموجبة لاختباري الاليزا غير المباشر والتلازن الانبوبي في المعز المصابة طبيعيا بداء البروسيللوسز مقارنة مع الامصال السالبة لتلك الاختبارات.

Changes in some biochemical parameters accompanied with Brucellosis in native goats

S. H. Arslan*, N. A. Al-Hussary, Q. T. Al-Obaidi* and M. M. Hassan***

* Department of Internal and Preventive Medicine, ** Department of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

The aim of the study was to determine changes in some of biochemical parameters accompanied with brucellosis naturally infected native goats. The study included examination of 102 blood sera representing 396 native goats from different areas in Mosul city using rose bengal test, indirect ELISA test and tube agglutination test. Results showed that prevalence of brucellosis by using rose bengal test and indirect ELISA test was (6.8% and 24.5%) respectively. Titers of rose bengal seropostive sera ranged (1/80 -1/640), whereas titers of indirect ELISA seropostive sera ranged (1/40 - 1/640) using tube agglutination test. Results also showed significant increase in aspartate transaminase, alanine transaminase, lactate dehydrogenase and significant increased in alkaline phosphatase, there were also significant increases in glucose concentration, total and direct bilirubin, triglycerides and cholesterol, whereas total protein and albumin values were significantly decreased. All these parameters examinated on seropostive sera for indirect ELISA and tube agglutination tests in goats naturally infected with brucellosis compared with seronegative sera for same tests.

Available online at http://www.vetmedmosul.org/ijvs

المقدمة

يعد مرض البروسيللوسز من الامراض المنتشرة والمستوطنة في بلدان الشرق الاوسط ومنها العراق (١) سجل المرض في الاردن والمملكة العربية السعودية والجمهورية السورية وبنسب مختلفة (٢-٤)، ويمتاز المرض بأن له مدة حضانة طويلة نسبيا ومختلفة والتي تمتد لمدة تتراوح بين اسبوعين ــ ٧ أشهر (٥)، وتأتي اهمية المرض كونه من الامراض المشتركة وواسع الانتشار عالميا ويصيب انواعا مختلفة من الثديات (٦) يسبب المرض خسائر اقتصادية كبيرة من خلال تأثيره المباشر في الحيوانات حيث يؤدي الى قلة الانتاج (حليب او لحم) والاجهاض والولادات الضعيفة وانخفاض خصوبة الحيوانات والذبح في برامج السيطرة (٧) وقد يسبب نفوق الاناث البالغة الناتج عن التهاب بطانة الرحم الحاد واحتباس المشيمة (٨)، تعد سلالات المعز بصورة عامة حساسة جدا للمرض بعكس سلالات الاغنام التي تتباين حساسيتها للاصابة بصورة واسعة جدا (٩)، مسبب المرض في المعز جرثومة البروسيلا من نوع B.melitensis (١٠) وذكر Ocholi (١١) ان البروسيلا المجهضة B.abortus تم عزلها المعز والضان، وسجل الحنكاوي (١٢) نسبة اصابة بداء البروسيللوسز في المعز بأستخدام اختبار وردية البنكال والاليزا غير المباشرة بلغت (٨.٨% و١٨.٣١%) على التوالي. أن لجراثيم البروسيلا القابلية المباشرة اوغير المباشرة في إحداث التغيرات في المعايير الكيموحيوية في الحيوانات الحقلية المختلفة (١٣)، يعتمد التشخيص الدقيق للمرض على العزل الجرثومي ولكن بطء نمو هذه الجراثيم وعدم القدرة على عزل الجراثيم عندما يكون المرض مزمنا بالإضافة الى كون حساسيته محدودة وغير تطبيقي ومكلف ولايمكن استخدامه كاختبار مسحي في برامج السيطرة وأستئصال المرض لذا بقيت الاختبارات المصلية هي الطريقة المثلى لتشخيص المرض ومن ضمنها أختباري وردية البنكال و التلازن الانبوبي (١٤،١٥)، ونظرا لاهمية وقلة الدراسات حول معرفة التغيرات في المعايير الكيموحيوية المرافقة للإصابة الطبيعية بداء البروسيللوسز في المعز المحلي وضعت هذة الدراسة.

المواد وطرائق العمل

أجريت الدراسة على ١٠٢ عينة مصل دم مثلت ٣٩٦ راسامن المعز المحلية توزعت على مناطق مختلفة من مدينة الموصل شملت (حي العربي والرحمانية والمثنى وكوكجلي والنمرود و بعشيقة و شهرزاد)، وللفترة من شهر أيار ٢٠٠٨ ولغاية أيار ٢٠٠٩. تم جمع (٥ مل) من الدم من الوريد الوداجي باستخدام سرنجات معقمة ووضعت في أنابيب زجاجية وتركت لمدة ٢٤ ساعة لكي يتخثر الدم، ثم وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة خمس دقائق وفصل المصل ووضع في أنابيب بلاستيكية معقمة وحفظت في درجة حرارة (-٢٠°) لحين اجراء الاختبارات المصلية. تم إجراء اختبار وردية البنكال على عينات المصل وحسب تعليمات الشركة التركية المجهزة (GÖKHAN) والذي يحتوي على المستضدات الخاص بجرثومة B.abortus (16)، واجراء اختبار الاليزا غير المباشر على العينات الموجبة والسالبه لاختبار وردية البنكال وحسب تعليمات الشركة الامريكية المجهزة (VMRD, Inc., USA) والذي يحتوي على المستضدات الخاصة بجرثومتي B.melitensis و B.abortus، واستعمال المستضد المجهز من الشركة التركية المجهزة (GÖKHAN) والذي يحتوي على المستضدات الخاص بجرثومة B.abortus لاجراء اختبار التلازن الانبوبي على العينات الموجبة لاختباري وردية البنكال والاليزا غير المباشرة (١٦).

أجريت الاختبارات الكيموحيوية على امصال المعز التي اعطت نتائج موجبة مع اختباري الاليزا غير المباشر والتلازن الانبوبي (١٠ عينات مصل) والتي كانت معايير اضدادها مابين (١/٤٠ -١/٦٤٠) فضلا عن مجموعة العينات السالبة لنفس الاختبارين (١٠ عينات مصل)، شملت الاختبارات الكيموحيوية قياس فعالية انزيم ناقلة امين الاسبارتات aspartate transaminase (AST) وانزيم ناقلة امين الالنين alanin transaminase (ALT) وانزيم نازعة هيدروجين اللاكتات lactate dehydrogenase (LDH)، بلاضافة الى قياس تركيز الكلوكوز glucose concentration، والاعتماد على الطريقة اللونية لتقدير تركيز ثلاثي الكليسيريد triglycerides، والبيلروبين الكلي والمباشر total and direct bilirubin ، واستخلصت نتائج معدلات البيليروبين غير المباشر indirect bilirubin وذلك بطرح معدلات البيليروبين المباشر من معدلات البيليروبين الكلي وتقدير تركيز الالبومين albumin، جميع هذة المعايير تم قياسها بالاعتماد على محاليل قياس جاهزة (Kits) وحسب تعليمات شركة سيربايو السورية، وتم قياس البروتين الكلي Total protein وحسب طريقة بايوريت(١٧)، كما تم قياس فعالية انزيم الفسفاتاز القلوية alkaline phosphatase (ALP) و الكولسترول cholesterol وحسب تعليمات شركة بايومريكس (Biomerieux) الفرنسية. تم تحليل النتائج احصائيا بأجراء اختبار التوافق واختبار t-test (١٨).

النتائج

اظهرت النتائج ومن خلال فحص ١٠٢ عينة مصل دم للمعز أن النسبة الكلية لتواجد اضداد جرثومة البروسيلا وبأستخدام اختباري وردية البنكال والاليزا غير المباشر بلغت (٦.٨% و٢٤.٥%) على التوالي، كما تم اجراء اختبار التلازن الانبوبي على العينات الموجبة لاختبار وردية البنكال (٧ عينة)

ان المعيار الحجمي ل (٣ عينة) منها تراوح مابين (١٠/١ الى ٢٠/١) او مايعادل ١٥-٣٠ وحدة دولية /مل اما بقية العينات الموجبة لاختبار وردية البنكال (٤ عينة) فقد كان المعيار الحجمي اكثر من ٦٠ وحدة دولية / مل وبمقدار تخفيف (٨٠/١ الى ٦٤٠/١)، في حين أظهرت نتائج اختبار التلازن الانبوبي للعينات الموجبة لاختبار الاليزا غير المباشر (٢٥ عينة) ان المعيار الحجمي ل (١٥ عينة) منها تراوح مابين (١٠/١ الى٢٠/١) او مايعادل ١٥-٣٠ وحدة دولية /مل اما بقية العينات الموجبة لاختبار الاليزا غير المباشر (١٠ عينة) فقد كان المعيار الحجمي اكثر من ٦٠ وحدة دولية / مل وبمقدار تخفيف (٤٠/١ الى ٦٤٠/١) (الجدول١).

واظهرت نتائج الاختبارات الكيموحيوية على عينات امصال المعز التي اعطت نتائج موجبة لاختبار الاليزا غير المباشر حدوث ارتفاع معنوي في انزيم الاسبارتات ناقلة الامين، وانزيم الالنين ناقلة الامين، وانزيم الفوسفاتاز القلوي وحدوث ارتفاع معنوي في انزيم نازعة هيدروجين اللاكتات، مقارنة مع مجموعة الامصال السالبة للاختبارات المصلية (الجدول ٢).

الجدول (١) النسب الكلية لتواجد اضداد جرثومة البروسيلا في المعز المحلي بأستخدام الاختبارات المصلية ومعاييرها.

نوع الاختبار	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية %	معايير الأضداد باستخدام اختبار التلازن الانبوبي					
				١٠/١	٢٠	٤٠	٨٠	١٦٠	٣٢٠	٦٤٠
وردية البنكال	١٠٢	٧	٦.٨	—	—	—	١	١	١	١
الاليزا غير المباشر	١٠٢	٢٥	٢٤.٥	—	—	٤	٣	١	١	١

الجدول (٢) التغيرات في بعض انزيمات امصال المعز المرافقة للاصابة الطبيعية بداء البروسيللوسز.

نوع الاختبار	مجموعة الامصال السالبة المعدل ± الخطاء القياسي	الضأن المصابة المعدل ± الخطاء القياسي
ناقلة امين الاسبارتات (وحدة دولية/لتر)	٢٤.٠٠ ± ١٥٢.٦	**١٨.٧٥ ± ١٧٥.٦٦
ناقلة امين الالنين (وحدة دولية /لتر)	٣.١٧ ± ٣٢.٩	** ٦.١٦ ± ٤١.٢
نازعة هيدروجين اللاكتات (غرام/لتر)	٠.٢ ± ٠.٦٢	*٠.٧٤ ± ١.٠٩
الفسفاتايز القلوية (وحدة دولية /لتر)	١٢.٧١ ± ٧٨.٣	** ١٠.٥٠ ± ١٥٧.٠

**الاختلاف معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية (P<0.01).

*الاختلاف معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية(P<0.05).

الجدول(٣) التغيرات في بعض المعايير الكيموحيوية في أمصال المعز المرافقة للاصابة الطبيعية بداء البروسيللوسز.

نوع الاختبار	مجموعة الامصال السالبة المعدل ± الخطاء القياسي	الضأن المصابة المعدل ± الخطاء القياسي
تركيز الكلوكوز (مليمول/لتر)	٠.٣٣ ± ٢.٣٩	* ٠.٤٧ ± ٣.٧
البيليروبين الكلي (مايكرومول/لتر)	١.٣٠ ±٨.٧٠	**١.٥٠ ± ٩.٤٠
البيليروبين المباشر (مايكرومول/لتر)	١.٠١ ± ٣.٤٠	**٠.٥٦ ± ٤.٤٠
البيليروبين غير المباشر (مايكرومول/لتر)	٠.٢٩± ٥.٣٠	١.٠٤ ± ٥.٠٠
ثلاثي الكليسريد (مليمول/لتر)	٠.٢٩ ± ١.١٠	* ١.١ ± ١.٤٨
الكولسترول (مليمول/لتر)	٠.٤٢ ± ٢.٣٥	** ١.٠٠ ± ٣.٤٦
البروتين الكلي (غرام/١٠٠مل)	١.٠٦ ± ٧.٩٦	** ٠.٩٧ ± ٦.٨٥
الالبومين (غرام/١٠٠مل)	١.٠٨ ± ٣.٧٠	** ٠.٦٨ ± ٢.٥٣

**الاختلاف معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية (P<0.01).

*الاختلاف معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية(P<0.05).

وبينت النتائج أيضا الارتفاع المعنوي في نسبة تركيز الكلوكوز، والبيليروبين الكلي، والبيليروبين المباشر وثلاثي الكليسريد تحت مستوى معنويا، والكولسترول تحت مستوى معنويا، مع انخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي والالبومين في العينات الموجبة لاختبار الاليزا غير المباشر في أمصال المعز المرافقة للإصابة الطبيعية بداء البروسيللوسز مقارنة مع مجموعة الأمصال السالبة (الجدول ٣).

المناقشة

أظهرت النتائج ان النسبة الكلية للاصابة بداء البروسيللوسز في المعز في مدينة الموصل بأستخدام اختباري وردية البنكال و الاليزا غير المباشر بلغت (٦.٨% و٢٤.٥%) على التوالي وجاءت هذة النتائج مقاربة لنتائج كل من (١٢،١٩،٢٠) التي استخدمت نفس الاختبارات في تشخيص المرض. واظهرت نتائج الاختبارات الكيموحيوية على عينات مصل الدم للمعز التي اعطت نتائج موجبة لاختبار الاليزا غير المباشر والتلازن الانبوبي حدوث ارتفاع معنوي في انزيم الاسبارتات ناقلة الامين، وانزيم الالنين ناقلة الامين، وانزيم نازعة هيدروجين اللاكتات، وانزيم الفسفاتاز القلوية، وارتفاع مستوى تركيز الكلوكوز، ومستوى البيليروبين الكلي والمباشر مقارنة مع مجموعة الامصال السالبة وجاءت متفقة مع (٢١)، ويعزى السبب في ذلك الى الاذى في الخلايا الكبدية تشمع الكبد ونخره وأذى العضلات والتحلل الدموي في جميع انواع الحيوانات (٢٢)، واشار الصوفي (٢٣) الى ان سبب الزيادة يعزى الى ان داء البروسيللوسز يسبب تضخما واحتقانا في الكبد والطحال والرئة والرحم والعقد اللمفية. في حين ان سبب الارتفاع في انزيم الفسفتاز القلوية قد يعزى الى تورم الخلايا الكبدية والتهاب البنكرياس في المجترات بالاضافة الى امراض العظام حيث تغزو الجرثومة العظام المحورية والمفاصل الكبيرة في (٦٧%) من الحالات المصابة بالمرض (٢٤،٢٥)، وأن سبب الارتفاع في تركيز البيليروبين يعود الى الاذى الحاصل في الكبد نتيجة الاصابة بالجرثومة والتهاب القناة الصفراوية مما يسبب ركود الصفراء في القناة الصفراوية ومن ثم ارتشاح البيليروبين من خلال جدارها الى الدم وبالتالي ارتفاعه في مصل الدم، بألاضافة الى تكسر كريات الدم الحمر (٢٤،٢٦). واظهرت النتائج ارتفاعا معنويا في مستوى الدهون المتمثلة بثلاثي الكليسيرايد والكولسترول في المعز المصابة مقارنة مع مجموعة الامصال السالبة واتفقت مع (١٣) الذي اشارالى الارتفاع في مستوى الدهون في الضأن المصابة طبيعيا بداء البروسيللوسز، ويعزى سبب الارتفاع في تركيز ثلاثي الكليسيرايد يعود الى وجود الذيفان الداخلي في الدم (٢١) لذا يعزى الارتفاع في هذه الدراسة الى الاصابة بجرثومة البروسيلا التي تحتوي على الذيفان الداخلي. وذكر Stockham & Scott (٢٢) الى ان سبب الارتفاع في تركيز الكوليسترول في المجترات يمكن ان يحدث نتيجة اعتلال الكلية والتهاب كبيبات الكلى والمتلازمة الكلائية.كما لوحظ من نتائج الدراسة انخفاض مستوى تركيز البروتين الكلي وتركيز الالبومين في المعز المصابة مقارنة مع مجموعة الامصال السالبة، وجاءت هذه النتائج مطابقة مع النتائج التي توصل اليها (١٣) ويعزى الانخفاض الى قلة صنعه في الكبد وهذا يعود الى اصابة الكبد الناتجة عن الاصابة بداء البروسيلا، وذكر Newman (٢٦) ان فقدان وتسرب الالبومين خلال النسيج التالف للكلية يودي الى انخفاض تركيزه، استنتج من هذه الدراسة أمكانية جراثيم البروسيلا في احداث تغيرات في المعايير الكيموحيوية في المعز المصاب طبيعياً، وتعد دراسة التغيرات الكيموحيوية في المعز المصابة بداء البروسيللوسز الدراسة الأولى.

الشكر والتقدير

تم دعم البحث من قبل كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.

المصادر

1. Al-Araji AHY, Nouri KA, Tawfik MR. Neurobrucellosis: report of Iraqi patients. J Fac Med. 1998;40(4):481-297.
2. Al-Ani FK, Al-Qaderi S, Hailat NQ, Razzia R, Al- Darraji AM, Human and animals Brucellosis in Jordan between 1996 and 1998: as study. Rev Sci Tech Off Int Epiz. 2004;23(3):831-840.
3. Al-Eissa YA. Brucellosis in Saudi Araba past present and future. Annal of Saudi Medicine. 1999;19(5):403-405.
4. Darwish M, Benkirane A, Field investigation of brucellosis in cattle and small ruminants in Syria.1990-1996. Rev Sci Tech off Int Epiz. 2001;20(3):769-775.
5. Songer JG, Post KW, Veterinary microbiology.bacterial and fungal agents of animal disease.1st ed. Elservier, Saunders, Missouri.2005; pp.200-206.
6. Cutler SJ, Whatmore AM, Commander NJ. Brucellosis-new aspect of an old disease. J.of Applied Microbiol. 2005;98:1270-1281.
7. Smith HL, Kadri SM. Brucellosis in India:a deceptive infectious disease. Indian J Med Res. 2005;122:375-384.
8. Radostitis OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Veterinary medicine, A text of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats, 10th ed., W.B. Saunders Elsevier,London.2007;.pp.966-998.
9. Krieg NR, Holt JG. Bergeys Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1, Williams and Wilkins , Baltimore, London. 1984;pp.377-388.
10. Garrido F, Duran M, Macmillan A, Minas A, Nicoletti P, Vecchi G, Brucellosis in sheep and goats (B. melitensis) European Commission , Report of scientific committee on animal health and animal welfare;2001.
11. Ocholi RA, Kwaga JKP, Ajogi I, Bale JOO. Abortion due to Brucella abortus in sheep in Nigeria. Rev Sci Tech off Int Epiz. 2005;24 (3):973-979.

١٢. الحنكاوي،عمر خزعل سلو. دراسة مقارنة لتشخيص مرض البروسيللوسز في الضأن والماعز في محافظة نينوى بأستخدام اختبار الاليزا مع الاختبارات المصلية الاخرى. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري،جامعة الموصل ٢٠٠٦.

١٣. العبدلي،ادريس بلال علي. الاصابة بالبروسيلا في محافظة نينوى وبعض الجوانب الكيمياوية الحيوية، اطروحة دكتوراة.كلية الطب البيطري،جامعة الموصل ٢٠٠٥.

14. Delpino MV,Cassatro J, Fossat CA, Baldi PC. Antibodies to the CP24 protin of Brucella melitensis lack diagnostic usefulness in ovine Brucellosis. Vet Microbiol. 2003;93:101-107.
15. Ferreira AC, Cardoso R, Travassos Diaz I, Mariano I, Belo A, Rolao PI, Manteigas A, Pina FA, Correa DSM. Evaluation of a modified rose Bengal test and an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of Brucella melitensis infection in sheep.Vet Res.2003;34(3):397-403.
16. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. Techniques for the Brucellosis laboratory. INRA, Paris, France; 1988.pp:63-129.
17. Wootton IDP. Microanalysis in medical biochemistry. Edinburgh and London;1974.pp: 156.
18. Steel RG , Torrie JH. Principles and Procedures of Statistics, 2nd. ed., McGraw , Hill Inc; 1985.pp: 120.
19. Hadad JJ, Al-Azawy ZS. Incidence of Brucellosis of sheep and goats in Ninevah Province Iraq. Iraqi J Vet Sci. 1990;4(1):27-33.

٢٠. منصور،ريم سالم.دراسة وبائية وتشخيصية لمرض البروسيلا في محافظة نينوى.رسالة ماجستير،كلية الطب البيطري،جامعة الموصل,٢٠٠٠.

21. Gur A,Geyik MF, Dikici B, Nas K, Cevik R, Sarac J, Hosoglu S. Complication of Brucellosis in different age groups: Astudy of 283 cases in south eastern Anatolia Of Turkey.Yonsei Med J. 2003; 44 (1):33-44.
22. Stockham SL, Scott MA.Fundamentalsof veterinary clinical pathology , lowa state press ,USA; 2002. pp.251-277.

٢٣. الصوفي، ليث عبد المجيد والسلطان، عماد ابراهيم، التغييرات المرضية المصاحبة لخمج البروسيلا المجهضة في خنازير غينيا الممنعة بلقاح الـــ Rev1 المنتج محليا، مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري، المجلد٢، العدد ١، ٢٠٠٣.

24. Braunwald E, Lsselbacher KJ, Petersdorf RG, Wilson JD, Martin JB, Fanci AS. Harrisons principles of internal medicine 11th ed. Mc Graw-Hill Book company, New York; 1987.pp. 1140-1163.
25. Hoover DL and Friedland AM. Brucellosis. In: Franz DR. Parott CD. Takafuji ET. (Editors) Textbook of Millitary Med. Medical Aspects of Chemical and Biological Defence Programs. USA; 2003. pp.513-521.
24. Burrows CF. Liver disorders.In: Schaer M. Clinical medicine of the dog & cat. Manson publishing, U.K.; 2003.pp:69.
25. Grioriou I, Giannakaki A,Pagoni M, Karmiris TD, Mitsouli C, Nikiforakis E. Extreme hematological abnormalities associated with Brucellosis: Report of two cases. Haematology. 2003;6(1): 93 -96.
26. Newman DJ. Price CP. Renel function and nitrogen metabolites In: Burtis CA. Ashwood ER.(editors) Tietz –Textbook of Clinical Chemistry W.B. Sounders Company, USA ; 1999.pp:1204-1270.