

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی

معاونت سلامت

مرکز سلامت محیط و کار

راهنمای کنترل ویبریوکلا (Vibrio cholerae)

در آب آشامیدنی

فهرست

عنوان	صفحه
مقدمه	۱
۱- توصیف ویبریوکلا	۵
۲- طبقه بندی ویبریوکلا	۵
۳- بیماری شناسی و اپیدمیولوژی ویبریوکلا	۷
۴- ویبریوکلا در محیط	۱۵
۵- اثرات تغییرات آب و هوا بر انتقال بیماریهای منتقله از آب	۱۸
۶- ویبریوکلا در آب	۲۰
۷- کنترل و پیشگیری بیماری وبا	۲۷
۸- اقدامات لازم جهت کنترل و پیشگیری از انتقال ویبریوکلا توسط آب	۲۸
۸-۱- دفع بهداشتی مدفوع و فاضلاب	۲۹
۸-۲- حفاظت و بهسازی منابع آب	۳۰
۸-۲- تصفیه آب آشامیدنی	۳۸
۸-۳- گندزدائی آب	۴۲
۹- پایش و ارزیابی ویبریوکلا در آب	۴۷
۱۰- عملیات کنترل بهداشتی آب به هنگام بروز و شیوع بیماری وبا	۵۴
ضمیمه ۱: روش آزمون ویبریوکلا در آب آشامیدنی	۵۶
ضمیمه ۲: کیفیت باکتریولوژیکی آب آشامیدنی	۷۰
منابع	۷۲

مقدمه

ویبریوکلا عامل وبا یک بیماری اسهالی مرگبار است. این بیماری از طریق آب و غذای آلوده منتقل می‌شود و یک مشکل جهانی به حساب می‌آید.

این بیماری با اپیدمی‌های سختی که تا بحال داشته است جان انسانهای زیادی را گرفته است. هر ساله موارد بروز و مرگ و میر ناشی از این بیماری در نقاط مختلف جهان بخصوص آفریقا و آسیا گزارش می‌شود. بطوریکه طبق گزارش ۱۹۹۵ سازمان بهداشت جهانی مجموعاً ۲۰۸۷۵۵ مورد ویا با ۵۰۳۴ مورد مرگ ناشی از آن گزارش شده است.

انتشار جغرافیایی وبا نشان می‌دهد ایران جزو کشورهای بومی این بیماری می‌باشد. بطوریکه تا بحال شاهد وقوع اپیدمی‌های مختلفی در نقاط مختلف ایران بویژه در سیستان، بلوچستان، خوزستان و کرمانشاه بوده‌ایم. در حال حاضر نیز این استان‌ها در وضعیت خاص آندمیستی قرار دارند و بطور معمول این همه‌گیریها هر چند سال یک بار در سطح کشور حادث می‌شود، ولی خوشبختانه با فعالیت‌ها و پایش‌های مناسب نظام قوی و منسجم بهداشتی در کشور در دهه اخیر موارد وبای گزارش شده کاهش چشم‌گیری داشته است. بطوریکه در سال ۱۳۷۷ تعداد موارد وبا ۱۲۴۷ و تعداد مرگ و میر ۲۱ نفر، در سال ۱۳۸۱ تعداد موارد ۱۱۸ و تعداد مرگ و میر ۱ نفر، بوده است. گرچه در سال ۱۳۸۴ موارد گزارش شده ابتلا به وبا بیش از هزار نفر بوده است. (۱)

بطور کلی در برنامه کشوری مبارزه با وبا، تهدیدهای جدی در رابطه با شیوع این بیماری عبارتند از: فقر فرهنگی، اقتصادی، اجتماعی و بهداشتی، ورود و خروج اتباع بیگانه از مرزهای مربوطه، کمبود منابع آب آشامیدنی سالم، عدم وجود سیستم‌های جمع‌آوری و تصفیه فاضلاب، سوء تغذیه، عدم نظارت مستمر، عدم هماهنگی درون بخشی و نیز برون بخشی، هم چنین موقعیت جغرافیائی خاص مناطق درگیر (بخصوص سیستان و بلوچستان) ناشی از همجواری با کشورهای که با انواع بیماریهای واگیر دست به گریبان هستند، از جمله مشکلات و بلکه معضل اساسی می‌باشد.

بدون شک آلودگی منابع آب به فاضلاب و فضولات بدلیل عدم جمع‌آوری و تصفیه مناسب و کمبود آب آشامیدنی سالم از مهمترین عوامل در شیوع انواع بیماریهای واگیر منتقله توسط آب از جمله وبا می‌باشد. بطوریکه برای اولین بار جان اسنو^۱ در ۱۸۴۴ در انگلستان ارتباط بین آب آلوده و بروز وبا را کشف نمود.

بنابراین آب آلوده می‌تواند بعنوان یکی از مهمترین عوامل جهت انتقال این بیماری در نظر گرفته شود و در صورت آلودگی آب آشامیدنی جمعیت زیادی از افراد در یک زمان کوتاه به این بیماری مبتلا می‌شوند و بیماری به صورت یک اپیدمی حاد بروز نماید. بطوریکه بررسی‌های انجام شده در مورد همه‌گیری‌هایی که تا کنون در کشور ما اتفاق افتاده است، نشان می‌دهد که منشا اغلب این اپیدمی‌ها آلودگی منابع آب آشامیدنی، بوسیله فاضلاب بوده است. به عبارت

^۱ - John snow

دیگر اپیدمی‌ها بیشتر در مناطقی اتفاق می‌افتد که از نظر بهداشت آب و فاضلاب ضعیف‌ترند.

با توجه به نقش آب در انتقال این بیماری، حفاظت منابع آب از آلودگی، دفع صحیح فاضلاب و فضولات، تأمین آب آشامیدنی سالم و نظارت بهداشتی بر تأمین آب یکی از راههای مهم کنترل این بیماری می‌باشد.

این راهنما که تحت عنوان ویبریوکلا در آب آشامیدنی تهیه شده است در بردارنده مطالبی است که می‌تواند جهت ناظرین بهداشتی بر تأمین آب مورد استفاده قرار گیرد. این مطالب شامل آشنائی با ویبریوکلا، نحوه سرایت به منابع آب، جلوگیری و پیشگیری انتقال از طریق آب، تصفیه و سالم‌سازی آب، پایش و تشخیص این ارگانیسم در آب می‌باشد.

در خاتمه بر خود لازم می‌دانم از معاونت سلامت وزارت بهداشت، مدیریت مرکز سلامت محیط و کار جهت پشتیبانی در تهیه این راهنما، اداره آب و فاضلاب مرکز سلامت محیط و کار آقای مهندس غلامرضا شقاقی و خانم مهندس پروین بینای مطلق تشکر نمایم.

از آقای مالک حسن‌پور کارشناس بهداشت محیط نیز که در تهیه این مجموعه با اینجانب همکاری نزدیک داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایم.

دکتر احمدرضا یزدانبخش

استادیار گروه بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی شهید

بهشتی

۱- توصیف ویبریوکلرا^۱

ویبریوکلرا، از خانواده ویبریوناسه، باکتری میله‌ای شکل خمیده، بی‌هوازی اختیاری، گرم منفی، بدون تشکیل اسپور می‌باشد. این باکتری در حدود ۲/۶-۱/۴ میکرون طول دارد. این باکتری قادر به متابولیسم از طریق تنفس و تخمیر است. (۲)

ویبریوکلرا، اکسیداز مثبت و احیاء کننده نیترات است، توسط یک تار لرزان قطبی غلاف‌دار قادر به حرکت می‌باشد. رشد آن توسط اضافه نمودن کلرید سدیم (NaCl) تحریک می‌شود. اما یک عامل مهم تشخیص از دیگر ویبریون‌ها، توانائی رشد ویبریوکلرا بر روی نوترینت آگار بدون افزودن NaCl باشد. (۳)

۲- طبقه‌بندی ویبریوکلرا

تمام اعضای جنس ویبریو دارای تار لرزان و پادگن H هستند. این پادگن جهت طبقه‌بندی و شناسائی ویبریو مناسب نمی‌باشد، ولی پادگن‌های پیکره‌ای (سوماتیک) O در این رابطه مفیدتر هستند. بنابراین، بوسیله آنتی‌سرم‌های ضد این پادگن، این ارگانیزم‌ها را به ۶ گروه مختلف O1 تا O6 طبقه‌بندی نموده‌اند. (۳)

ویبریوکلرا O1 براساس آنتی ژن‌های A, B, C به سروتیپ‌های اگاوا^۲، اینابا^۳ و هیکوجیما^۴ تقسیم می‌شوند. اگاوا و اینابا نام بیمارانی است که

^۱ - Vibrio cholerae

^۲ - Ogave

^۳ - Inaba

^۴ - Hikojima

برای اولین بار این سروتیپ‌ها در آنها تشخیص داده شده است. هیکوجیما نام یکی از ایستگاههای قرنطینه واقع در کشور ژاپن می‌باشد که برای اولین بار یکی از افراد حامل این سروتیپ را در آن مکان یافتند. هر سه دارای پادگن گروهی سوماتیک A هستند. سروتیپ اگاوا پادگن سوماتیک B نیز دارد. اینبا دارای پادگن A و C و هیکوجیما دارای هر سه نوع پادگن A و B و C است.

بیوتیپ التور که برای اولین بار در التور یکی از ایستگاههای قرنطینه در مصر شناسائی شد. دارای خاصیت همولیتیک است و در مقابل پلی پگزین B مقاوم می‌باشد و گلبول قرمز جوجه را آگلوتینه می‌کند.

علاوه بر اختلاف‌های بیولوژی و بیوشیمیائی که ویبریوی عامل التور با سویه‌های کلاسیک دارد. تفاوت‌های مهمی هم بین آنها موجود می‌باشد. عامل التور مقاومتر است. مدت زمان بیشتری در محیط آب زنده می‌ماند. نسبت موارد عفونت ناشی از این میکروارگانیسم به مواد بیماری حاصله بیشتر است.

چندین نوع ویبریون دیگر وجود دارد که قادر به ایجاد علائم شبه وبا در انسان می‌باشند ولی به گروههای پادگن O دیگری متعلق بوده و با آنتی سرم O1 آگلوتینه نمی‌شوند. بنابراین به ویبریوهای NAG¹ معروف می‌باشند (۴و۳)

¹ - Non Agglutinating

۳- بیماری شناسی و اپیدمیولوژی ویبریوکلا

ویبریوکلا عامل بیماری وبا (کلرا) می‌باشد. وبا نوعی بیماری حاد است که در اثر آنتروتوکسین ویبریوکلرای کلونیزه شده در روده باریک ایجاد می‌شود. در اکثر موارد شدید، باعث از دست رفتن سریع مایعات و الکترولیت‌ها از طریق روده می‌گردد و در صورتی که درمان نشود، به شوک هیپوولمیک، اسیدوز متابولیک و مرگ بیمار منجر می‌گردد.

Dupont (۱۹۷۴) و Eugen (۱۹۷۴) تعداد تقریبی ارگانیسم ویبریوکلا را جهت ایجاد این بیماری 10^6 - 10^9 عدد ذکر کرده‌اند.

دوره نهفتگی این بیماری چند ساعت تا چند روز و به طور معمول در حدود ۲ تا ۵ روز است. به دنبال دوره کمون، اکثر موارد و با بصورت بدون علامت یا با علائم بالینی مختصر تظاهر می‌نماید. به طوری که در رابطه با بیوتیب التور، به ازای هر یک مورد بالینی ۲۰ تا ۱۰۰ مورد بدون علامت حادث می‌گردد.

اولین علائم بیماری، شامل افزایش حرکتهای دودی روده است که بیمار، بصورت احساس پری و سر و صدا در شکم بیان می‌نماید. سپس مدفوع شلی که نمای مشخص سوپ برنجی ندارد ظاهر می‌گردد. بعد از چند بار دفع مدفوع آبکی، مواد دفعی، نمای سوپ برنجی به خود می‌گیرد و بوی ماهی پیدا می‌کند. و از آنجا که تمامی علائم بیماری تقریباً ناشی از دفع آب و الکترولیت‌ها است و شدت علائم به میزان دفع این مواد بستگی دارد، سیر طبیعی بیماری نیز با شدت دهیدراتاسیون در ارتباط می‌باشد. به طوری که موارد خفیف در عرض یک هفته خود بخود بهبود می‌یابد. در حالی که در موارد شدید وبا، میزان دفع مایعات

به یک لیتر در ساعت نیز می‌رسد و در عرض ۶ ساعت ممکن است به به دهیدراتاسیون بیش از ۱۰٪ وزن بدن و شوک هیپوولمیک و کلاپس بینجامد و در صورت عدم جبران سریع مایعات و الکترولیت‌ها به عوارض کلیوی، قلبی تنفسی و اسیدوز و مرگ بیمار منجر می‌شود. اغلب موارد مرگ، در عرض بیش از ۱۸ ساعت رخ می‌دهد.

به طور کلی، در سیر طبیعی و با، وقتی شدت دهیدراتاسیون به ۲ تا ۳٪ وزن بدن برسد بیمار دچار تشنگی شدیدی می‌شود و گرچه به احتمال زیاد دچار استفراغ نیز می‌باشد. ولی در صورتی که مایع‌های حاوی گلوکز و املاح استفاده شود، به تعادل مایعات و الکترولیت‌های بیمار کمک می‌گردد. وقتی شدت دهیدراتاسیون به ۵٪ وزن بدن برسد. قابلیت ارتجاعی پوست کاهش می‌یابد. نبض سریعتر شده و به آسانی لمس نمی‌شود و بیمار ضعیف و افسرده به نظر می‌رسد و از حجم ادرار او کاسته می‌شود. زمانی که شدت دهیدراتاسیون به ۱۰٪ برسد، خطر بروز شوک هیپوولمیک وجود دارد و در این حالت بیمار به شدت ناراحت به نظر می‌رسد، ضربان قلب او سریع و نبض رادیال او غیرقابل لمس می‌باشد. فشار خون نیز پایین و غیرقابل بررسی است. در این مرحله بدن بیمار و بخصوص دست و پای او سرد است و پوست انگشتان دست، چروکیده و نوک انگشتان، زبان و لب‌ها کبود می‌باشد. اگر مایع‌ها و الکترولیت‌های بدن از طریق داخل وریدی به بدن وارد نشود، بیمار به علت شوک هیپوولمیک، اسیدوز و متابولیک و اورمی تلف خواهد شد. این بیماری مزمن نخواهد شد و میزان مرگ و میر ناشی از آن در دورانی که استفاده از سرم و الکترولیت ممکن نبود

بالغ بر ۵۰٪ ذکر شده است ولی در شرایط مناسب درمانی، این میزان کمتر از ۱٪ می‌باشد. (۴)

در حال حاضر سروتیپ‌های O1 و O139 (نوع جدیدی از ویبریوکرای غیر O1 بنام ویبریوبنگال سبب بروز اپیدمی در بنگلادش و هند گردید) عامل وبا به حساب می‌آیند. تا همین اواخر گروه سروتیپ O1 تنها علت وبای اپیدمیک بوده است. در اواخر سال ۱۹۹۲ وبا شناسائی سروتیپ O139 بنگال که در طول سواحل بنگال موجب بروز اپیدمی وسیع وبا در جنوب هند و بنگلادش گردید، اصل بدون تغییر فوق متزلزل شد.

بیماری وبای پاندمی قرن نوزدهم، بارها از هندوستان به بسیاری از نقاط دنیا منتشر شده است. ولی در نیمه اول قرن بیستم، به طور عمده به آسیا محدود بوده است. فقط همه‌گیری شدیدی در سال ۱۹۴۷ در کشور مصر رخ داده است. وبا بومی دلتای رود گنگ در شبه قاره هند می‌باشد. از سال ۱۸۱۷ تاکنون هفت پاندمی گسترده روی داده است. پاندمی فعلی (پاندمی هفتم) در سال ۱۹۶۱ از اندونزی و ابتدا بعثت بیوتیپ التور آغاز شد. سپس در سرتاسر آسیا منتشر گردید و در بسیاری از نواحی، ویبریوکرای التور جانشین سوش‌های اندمیک کلاسیک گشت. این پاندمی بمدت کوتاهی اروپا را دربر گرفت اما روش‌های مؤثر بهداشت عمومی و میزان بالای رعایت موازین بهداشتی، تأثیر آنرا محدود ساختند.

در اوایل دهه ۱۹۷۰ وبای التور افریقا را مورد هجوم قرار داد و پیش از آنکه بصورت مشکل اندمیک پایدار درآید موجب اپیدمی‌های گسترده‌ای گردید. تاریخچه اخیر وبا در افریقا حاوی موارد متعدد و شدیدی از طغیان بیماری می‌باشد که غالباً آشفنگی‌های ناشی از جنگ

و قتل عام زمین‌ساز آنها هستند. یکی از این موارد در سال ۱۹۹۴ و در اردوگاه‌های آوارگان روندایی در اطراف گومای زئیر روی داد که طی آن ده‌ها هزار نفر مبتلا شده و تعداد زیادی فوت شدند. وقوع صدها مورد وبا در رومانی و استان سابق دریای سیاه اتحاد جماهیر شوروی در سال ۱۹۹۵، نشان دهنده قدرت ارگان‌یسم مزبور در ایجاد اپیدمی بهنگام افت مراقبت‌های بهداشت عمومی می‌باشد.

از سال ۱۹۷۳ به بعد در طول خلیج ایالات متحده و سواحل لوئیزیانا و تگزاس، عفونتهای پراکنده و اندمیک ناشی از ویبریوهای مشاهده شده که با سوش‌های پاندمی هفتم خویشاوند می‌باشند. این عفونت‌ها معمولاً بدنبال مصرف صدف‌های آلوده‌ای روی می‌دهند که در همان محل پرورش داده شده‌اند. گاهی مواردی از بیماری در نقاطی از ایالات متحده مشاهده گردیده که دورتر از ساحل خلیج مزبور قرار دارند. این موارد نیز بعلت حمل غذاهای دریایی خلیج به آن نقاط روی داده‌اند.

با اینکه رسیدن پاندمی وبا به آمریکای لاتین واقعه‌ای بود که از مدت‌ها پیش انتظار آن می‌رفت، تنها در سال ۱۹۹۱ این مناطق را درگیر نمود. بیماری ابتدا در ژانویه ۱۹۹۱ از سواحل پرو آغاز گردید و ماهیگیران آنرا به اکوادور و کلمبیا رساندند. سپس بصورت اپیدمی انفجاری در تقریباً تمامی امریکای جنوبی و مرکزی منتشر گردید. در اولین سال طغیان بیماری حدود ۴۰۰۰۰۰ مورد گزارش گردید و تا انتهای سال ۱۹۹۴ این تعداد به یک میلیون نفر رسید. با اینکه میزان مرگ و میر تجمعی زیر یک درصد قرار داشت اما در جوامعی که برای اولین بار دچار طغیان بیماری گردیدند این میزان به ۳۰ درصد نیز رسید. زیرا عدم آشنایی با بیماری منجر به بکارگیری

یکسری درمانهای غیر مؤثر گردید. آموزش ارائه‌دهندگان خدمات بهداشتی به جامعه موجب آگاهی این افراد از بیماری و برخورد مناسب با آن شده و مرگ و میر ناشی از آن را به میزان قابل توجهی کاهش داد. نظیر آنچه که در دو دهه قبل در افریقا روی داد و سوش‌های التور اپیدمیک بجای زندگی در فرورفتگی‌های خلیج‌های آبهای شور به آبهای داخلی خوگرفتند، در امریکای لاتین نیز ارگان‌سیم‌ها در بسیاری از نواحی امریکای لاتین (که به تازگی بدانجا رسیده بودند) اندمیک گردیدند.

در ایالات متحده نیز مواردی در ارتباط با اپیدمی امریکای لاتین مشاهده گردید. بطور مثال در دو طغیان مجزای بیماری در سال ۱۹۹۱، بدن‌بال مصرف خرچنگ پخته شده که بطور غیرقانونی و توسط مسافرینی از اکوادور آورده شده بودند، در نیویورک و نیوجرسی، یازده نفر مبتلا شدند. گرچه سوش‌های مذکور نتوانستند در ایالات متحده گسترش یابند، وقایعی این‌چنینی، ضرورت هوشیاری متخصصان مراقبت‌های بهداشتی را، حتی در نقاطی دور از یک اپیدمی مورد تأکید مجدد قرار می‌دهد.

در اکتبر ۱۹۹۲، طغیان شدید وبای بالینی در شهر بندری مدرس و شهرهای اطراف آن واقع در جنوب هند روی داد. ثابت شد که عامل مولد آن سوش جدیدی از ویبریوکلرا می‌باشد که نه به گروه سرولوژیک 01 (که معمولاً موجب وبای اپیدمیک می‌گردد) و نه به هیچکدام از ۱۳۷ گروه سرولوژیک شناخته شده تا آن زمان تعلق داشت. این سوش سریعاً در بالا و پایین ساحل خلیج بنگال منتشر شده و در دسامبر ۱۹۹۲ به بنگلادش رسید. در آنجا و تنها در سه ماه اول سال

۱۹۹۳، بیش از ۱۰۰۰۰۰ مورد وبا روی داد. سپس در سرتاسر شبه قاره هند و تا پایان سال ۱۹۹۴ به کشورهای مجاور آن نظیر پاکستان، نپال، غرب چین، تایلند و مالزی نیز گسترش یافت.

از آن زمان به بعد بعثت شناسایی آنتی ژن O سوماتیک جدید و منشاء جغرافیایی این نوع ویبریو، ارگانیسم مزبور ویبریوکلرا O139 بنگال خوانده شد.

تظاهرات بالینی و مشخصات اپیدمیولوژیک بیماری ناشی از سوش O139 بنگال، مشابه وبای O1 می باشد. اما ایمنی در برابر وبای O1 به معنای محافظت شخص در برابر O139 بنگال نیست. بنابراین با اینکه وبای O139 بنگال تقریباً بدون استثناء محدود به نواحی اندمیک O1 می باشد، بیماران در تمامی سنین را مبتلا کرده و اکثر موارد آن در بالغین روی می دهد. بعلاوه، با توجه به وبای شدید و کشنده ناشی از سوش O139 بنگال، در واقع پاسخ جمعیت مبتلا به بیماری به مثابه جمعیتی بود که برای اولین بار با وبا مواجه می شوند. از آنجائیکه ایمنی اکتسابی طبیعی برضد ویبریوکلرای O1، شخص را در برابر سوش O139 بنگال محافظت نمی نماید، واکنش هایی که علیه نوع اول تولید شده اند در مورد نوع دوم کارآمد نیستند.

نظیر اپیدمی های گذشته O1 در نواحی بومی وبا، اپیدمی O139 در ابتدا مصیبت بار بود. برخی از دست اندرکاران معتقدند که ظهور ویبریوکلرای O139، نشانه ای از آغاز پاندمی هشتم گسترده وبا می باشد. در واقع، نظیر التور O1 که جانشین بیوتیپ کلاسیک گردید، در سال ۱۹۹۳، O139 بنگال بسرعت جانشین التور O1 شده و در نواحی محل ظهورش بصورت شایعترین سوش جدا شده از محیط و

عمده‌ترین علت وبای بالینی در آمد. اما با آغاز سال ۱۹۹۴ در کمال تعجب و بدور از انتظار، التور O1 در بنگلادش مجدداً غالب گردید و وبای O139 بنگال را به عفونتی زمینه‌ای و اندمیک بدل ساخت. این روند در سال ۱۹۹۵ نیز ادامه یافت. با این وجود، بدنبال طغیان مجدد بین قاره‌ای بیماری که بواسطه غذا و در اوائل سال ۱۹۹۴ در میان مسافران یک کشتی تفریحی در جنوب شرقی آسیا روی داد، توانایی O139 بنگال جهت گسترش جهانی مورد تأکید مجدد قرار گرفت. شش مسافر از ۶۳۰ مسافر (۵ نفر از امریکا و یک نفر از انگلستان) بیمار شده و علائم آنها تنها پس از بازگشتشان به خانه آغاز گردید. آنها احتمالاً ارگانیزم را طی توقفی در تایلند کسب نموده بودند و منشاء احتمالی آن برنجی بود که در رستورانی مخصوص و طی وعده غذایی ویژه‌ای مصرف گردید. (۵)

وضعیت بیماری در ایران طی نیم قرن گذشته:

اولین اپیدمی وبای التور در سال ۱۳۴۴ در ایران به وقوع پیوست و از آن پس بیماری در کشور ما حالت بومی به خود گرفت و همه ساله مواردی از آن بصورت تک‌گیر در کانون‌های پراکنده و هرچندگاه یک‌بار بصورت همه‌گیری‌های کوچک و بزرگ بروز می‌کند. این بیماری از اپیدمی سال ۱۳۴۴ تا کنون ۹ بار به اوج رسیده که عبارتند از:

سال ۱۳۴۹، ۱۹۶۶۳ مورد؛ سال ۱۳۵۴، ۲۹۶۶ مورد؛ سال ۱۳۵۵، ۲۱۰۰ مورد؛ سال ۱۳۵۶، ۱۰۸۳۶ مورد؛ سال ۱۳۵۸، ۱۸۵۶ مورد؛ سال

۱۳۶۰، ۶۱۰۷ مورد؛ سال ۱۳۶۴، ۱۸۸۸ مورد؛ سال ۱۳۶۷، ۲۴۸۵ مورد؛ سال ۱۳۶۸، ۵۲۲۰ مورد.

همچنین طبق آمار رسمی که در سال ۱۹۹۸ به سازمان جهانی بهداشت، ارائه شده است. در سال ۱۹۹۷ (۱۳۷۶ شمسی) موارد ثابت شده و با در سطح کشور، بالغ بر ۱۱۰۶ مورد بوده است. (طی طغیان بیماری در سال ۱۳۷۷ بیش از ۱۰۰۰۰ مورد).

نوع عامل بیماریزا در سال‌های ۴۶-۱۳۴۴ اگاوا، سه سال بعد اینابا و تا سال ۱۳۵۶ به طور متناوب اینابا و اگاوا و از آن سال به بعد، اگاوا بوده است.

بیماری، همه ساله در بسیاری از استان‌های کشور، بصورت تک‌گیر گزارش می‌شود، به طوری که در بعضی از مناطق، همه ساله، مواردی وجود دارد و در بعضی از مناطق دیگر همه‌گیری‌هایی رخ می‌دهد. این استان‌ها عبارتند از تهران، آذربایجان شرقی، خوزستان، خراسان، سیستان و بلوچستان، اصفهان و کردستان. بیماری وبا التور، بیشتر در شهرها اتفاق می‌افتد و میزان مرگ و میر آن طی همه‌گیری‌ها حدود ۱/۲٪ می‌باشد.

بررسی‌های انجام شده در مورد همه‌گیری‌هایی که تا کنون در کشور اتفاق افتاده است، نشان می‌دهد که منشأ اغلب این اپیدمی‌ها آلودگی منابع آب آشامیدنی، بوسیله فاضلاب بوده است. به عبارت دیگر، اپیدمی‌ها در مناطق اتفاق می‌افتد که از نظر بهداشت آب و فاضلاب ضعیف‌ترند و این واقعیت را حتی در تاریخ پزشکی ۱۷۰ سال گذشته کشور نیز می‌توان ملاحظه کرد. (۴)

۴- ویبریوکلا در محیط

گرچه انسان مخزن اصلی ویبریوکلا (عامل وبا) محسوب می‌شود، ولی برطبق شواهد موجود ممکن است مخازن محیطی نیز وجود داشته باشد. ویبریوکلا از طریق مدفوع فرد آلوده به محیط دفع می‌شود. تعداد ویبریوکرای موجود در هر میلی‌لیتر مدفوع در حدود یکصد هزار تا یک میلیارد می‌باشد. هر بیمار مبتلا به وبا ممکن است طی بیماری خود حدود ۱ تا ۶۰ لیتر و به طور معمول بالغ بر ۱۰ تا ۲۰ لیتر مدفوع آبی دفع نماید. بنابراین اگر این بیماران تحت درمان قرار نگیرند، بزودی تعداد زیادی ویبریو در محیط زندگی انسان پراکنده خواهد شد. البته بیماران مبتلا به وبای با شدت متوسط و شدید، توانائی دور شدن از محیط خود را نخواهند داشت و به همین علت بیشتر باعث آلودگی منطقه محل سکونت خود خواهند شد. از طرفی اگر چنین بیمارانی در کشورهای در حال پیشرفته و عقب‌نگه داشته شده، حتی در بیمارستان هم بستری شوند، فضولات آنها به علت عدم رعایت موازین دفع صحیح مدفوع و ادرار باعث آلودگی محیط خارج بیمارستان نیز خواهد شد. بیماران مبتلا به وبای خفیف، به اندازه مبتلایان به وبای با شدت متوسط و شدید میکروارگانسیم‌ها را به محیط خارج دفع می‌نمایند ولی به علت توانائی حرکت، از جائی به جای دیگر نقل مکان می‌کنند و به این علت ممکن است در انتشار عفونت، سهم بیشتری را دارا باشند.

افراد مبتلا به وبای بدون علامت بالینی، تعداد کمتری ویبریوکلا به اطراف منتشر می‌کنند، به طوری که شاید تعداد ویبریوها در هر گرم

مدفوع آنها از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰۰ عدد تجاوز نکند ولی از آنجا که هیچ‌گونه کنترلی بر روی چنین افرادی وجود ندارد، احتمال آلودگی محیط بوسیله آنها بسیار زیاد می‌باشد. از طرفی طی مطالعه‌های بالینی ممکن است مورد شک واقع نشوند، یا حتی مدفوع آنها نتیجه منفی داشته باشد. چون بسیاری از ارگانیسم‌های دیگر نیز در مدفوع آنها وجود دارد و می‌تواند باعث اغتشاش در تشخیص باکتریولوژیک شود. شایان ذکر است که مبتلایان به وبا فقط در مرحله حاد بیماری، ارگانیسم‌های ویبریوکلا را دفع می‌نمایند و خلاصه اینکه مبتلایان به وبای خفیف و بدون علامت، به مراتب خطرناکتر از مبتلایان به وبای شدید هستند و به دلایل ذکر شده نقش بارزتری در انتشار عفونت دارند.

بهر حال نحوه انتقال بیماری را می‌توان در ۵ مورد زیر عنوان نمود:

- ۱- از طریق آب آلوده به مدفوع یا مواد استفراغ شده از مبتلایان به وبا
- ۲- از طریق آب آلوده به مدفوع حاملان ویبریوکلا با وسعت کمتر
- ۳- از طریق خوردن مواد غذایی آلوده به آبهای کثیف، مدفوع یا دست‌های آغشته به خاک‌های آلوده
- ۴- از طریق مگس
- ۵- خوردن بعضی از انواع خرچنگ و صدف‌هایی که از آبهای آلوده صید شده است

مبتلایان به وبا برای مدت زیادی ناقل باقی نمی‌مانند. به طوری که در انتهای هفته اول بیماری حدود ۷۰٪ بیماران باسیل را دفع نمی‌کنند. در پایان هفته دوم ۹۰٪ و در پایان هفته سوم ۹۸٪ مبتلایان باسیل را دفع نمی‌نمایند. این ارقام ممکن است در مورد افراد بدون علامت نیز

صدق کند و حالت حاملی طولانی مدت پدیده‌ای نادر می‌باشد. عفونت ناشی از ویبریوهای التور، طولانی‌تر از تیپ کلاسیک است، ولی موارد خفیف و بدون علامت بیشتری ایجاد می‌کند و در تماس‌های خانوادگی نیز موارد عفونت کمتری را ایجاد می‌نماید. (۴)

مدت زمان زنده ماندن ویبریوکلرا در شرایط مختلف یکسان نمی‌باشد بطوریکه در یخچال به مدت طولانی‌تر از دمای اتاق زنده می‌ماند. همچنین در لیمو به مدت یکساعت، در پرتقال به مدت یکروز، در موز به مدت دو روز و در بادمجان به مدت هفت روز زنده مانده است. این میکروارگانیسم در شیر و فرآورده‌های لبنی: از جمله در بستنی و کره به مدت بیش از یک ماه زنده می‌ماند و به طور کلی ویبریوهای التور، نسبت به تیپ‌های کلاسیک مدت زمان بیشتری در مواد غذایی زنده می‌مانند. حتی آب‌هائی که به علت دارا بودن املاح زیاد به مصرف آشامیدن انسان نمی‌رسد نیز ممکن است در انتقال ویبریوها دخالت داشته باشد. به این ترتیب که ماهی‌ها و حلزون‌های موجود در این آب‌ها آلوده شده و سپس عفونت را به انسان منتقل نمایند. بقای ویبریوکلرا بر روی اشیاء به درجه حرارت، رطوبت و عوامل دیگری بستگی دارد. این ارگانیسم‌ها در درجه حرارت اتاق به مدت ۵ روز بر روی پارچه‌های کتان زنده می‌مانند و در صورت مرطوب بودن محیط حتی به مدت ۵ هفته نیز ممکن است به حیات خود ادامه دهند. دوام این باکتری بر روی پشم در حدود ۴ روز، بر روی چرم به مدت ۲ روز است. بنابراین طی تماس‌های خانوادگی ممکن است اشیای آلوده نیز نقشی در انتقال ویبریوکلرا داشته باشند.

طی بعضی از گزارش‌ها ویبریوکلرا می‌تواند در عرق انسان یا البسه آغشته به عرق زنده بماند حتی نظیر لژیونلا از طریق دستگاه‌های تهویه به انسان منتقل شود. (۴)

۵- اثرات تغییر آب و هوا بر بیماری‌های منتقله توسط آب

طی چند سال اخیر، توجه زیادی به تغییرات جوی و اثرات آن بر سلامت انسان شده است. بطوریکه تأثیر تغییرات اقلیمی بر بیماری‌های عفونی و منتقله توسط بندپایان به اثبات رسیده، و مدارک قوی دال بر ارتباط بین تغییرات جوی و افزایش در میزان بروز بیماری‌های عفونی نظیر مالاریا و بیماری‌های اسهالی اندمیک نظیر کلرا و شیگلوز وجود دارد. از پدیده‌های جوی مهم در این زمینه می‌توان به پدیده ال نینو اشاره نمود. مطالعات نشان داده است که به موازات بحران‌های جوی یک دوره ال نینو ممکن است تغییراتی در میزان بروز و شیوع بیماری‌ها اتفاق افتد. ال نینو در زبان اسپانیایی به تولد حضرت مسیح اطلاق می‌شود. و بیانگر اختلالی است که در جریان آب‌های اقیانوسی در حاشیه ساحل غربی آمریکای جنوبی رخ می‌دهد. این پدیده می‌تواند در دوره زمانی کریسمس رخ می‌دهد و از اینرو به ال نینو معروف می‌باشد. در اثر این پدیده جریان آب سرد غنی از مواد غذایی در نواحی ساحل همبولت به وسیله جریان گرم اقیانوس از طرف شرق که مواد غذایی کمی دارد جایگزین می‌شود. حوادث ال نینو هر سه تا پنج سال یکبار تکرار گردیده و هر بار همراه با کاهش فاجعه آمیز و زیان‌های اقتصادی و بهداشتی بوده است. تغییر در فشار، نوسانات در قدرت وزش باده‌ها، جریان‌های اقیانوسی، تغییرات دمای سطح دریاها و بارش در نواحی مختلف است. این پدیده حتی اقلیم‌های دور دست را تحت

تأثیر قرار می دهد و در انتقال بیماری ها تأثیر می گذارد. طغیان سندرم حاد تنفسی هانتا ویروس در سال ۱۹۹۳ در آمریکا، خشکسالی در آسیای جنوب شرقی، بخش هائی از استرالیا و قسمت هائی از آفریقا و بارش سنگین و سیل در نواحی لم یزرع آفریقا و آمریکای جنوبی در ارتباط با ال نینو مشاهده شده است.

ال نینو و آشفته گی های جوی مشابه، بهداشت انسان را عمدتاً از طریق بلایای طبیعی و طغیان های بیماری های عفونی تحت تأثیر قرار می دهند. تغییرات آب و هوایی سبب افزایش یا کاهش در بارندگی می شود که می تواند به بلایای طبیعی نظیر سیل و خشکسالی منتهی گردد. به علاوه وزش بادهای قوی نظیر گردبادها ممکن است در تعداد و شدت متفاوت رخ دهد. تغییرات آب و هوا در بعضی از مناطق جهان روی کنترل مالاریا نیز تأثیر داشته است. زیرا این تغییرات جوی می تواند مکان های تولید مثل ناقل را تحت تأثیر قرار دهد. افزایش میزان بروز مالاریا هم زمان با حوادث ال نینو در سراسر جهان ثبت شده اند. وقوع چنین اپیدمی هائی در بولیوی، کلمبیا، اکوادور، پرو و ونزوئلا در آمریکای جنوبی در روندا در آفریقا و در پاکستان و سریلانکا در آسیا به اثبات رسیده است.

شواهد حاکی از آن است که ارتباط نزدیکی میان تغییرات جوی و شیوع بیماری وبا وجود دارد. از سپتامبر ۱۹۹۷ وضعیت مضمحل کننده ای از بیماری وبا در شاخ آفریقا وجود داشته است. بطوریکه پس از بارندگی های سنگین و سیل ها، اغلب کشورهای این منطقه افزایش ناگهانی در تعداد موارد مرگ و میر های ناشی از وبا گزارش شده است. در سال ۱۹۹۷، تعداد کلی ۴۰۲۴۹ مورد وبا با ۲۲۳۱ مورد مرگ

در تانزانیا گزارش گردیده است . که در مقایسه با سال ۱۹۹۶ با ۶۸۱۴ مورد وبا و ۳۵ مورد مرگ افزایش قابل ملاحظه ای را نشان می دهد . که این افزایش به خاطر تغییرات جوی بوده است. (۲۰،۲۱)

تأثیر تغییرات جوی بر بروز و شیوع بیماریهای منتقله از طریق آب دارای اهمیت زیادی می باشد. زیرا این تغییرات می تواند تأثیر زیادی بر کمیت و کیفیت منابع آب مورد استفاده در اجتماع بگذارد. الگوهای بارندگی میتواند بر انتقال و انتشار، و دما بر رشد و زنده ماندن عوامل عفونی در آب مؤثر می باشد. افزایش دمای آب های سطحی بطور غیر مسقیم بر زنده ماندن عوامل پاتوژن روده ای مثل ویبریو کلرا با افزایش منبع غذایی این باکتری مؤثر است. همچنین بارانهای سخت و یا سیلاب می تواند باعث آلودگی منابع آب از طریق انتقال فضولات انسانی یا حیوانی به این منابع گردد. (۲۱)

۶- ویبریوکلرا در آب

تأمین آب آشامیدنی و بهداشتی سالم مهمترین فعالیت جهت حفظ سلامتی افراد یک اجتماع می باشد، مصرف آب آلوده مهمترین عامل مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه می باشد. بطور مثال روزانه نزدیک به ۲۵۰۰۰ نفر در سراسر جهان به دلیل مصرف آب آلوده جان خود را از دست می دهند. ۲۵ درصد تخت های بیمارستانی توسط افرادی اشغال شده است که در اثر آب آلوده بیمار می شوند (۲۱) براساس اظهار یونیسف ۳/۸ میلیون کودک زیر ۵ سال در سال ۱۹۹۳ از بیماری اسهال در سراسر جهان مرده اند، در هندوستان بیش از ۳۰۰۰۰۰ کودک هر ساله اغلب توسط بیماری های منتقله بوسیله آب می میرند. (۳)

اولین بار جان اسنو^۱ در سال ۱۸۸۴ در همه‌گیری وبا در شهر لندن نشان داد که آب آلوده در انتشار و انتقال بیماری‌ها نقش دارد. او در مطالعات خود دریافت که آب آلوده به فاضلاب می‌تواند یکی از کانون‌های شیوع بیماری وبا باشد مطالعات چندی ثابت نمود که عامل بیماری وبا مدت زیادی در آب زنده خواهد ماند. (۷)

امروزه مشخص شده است که طیف وسیعی از بیماری‌های میکروبی می‌تواند از طریق آب آلوده منتقل شود. جدول ۱ عوامل بیماری‌زا منتقله توسط آب و اهمیت آنها در منابع آب آشامیدنی را نشان می‌دهد. (۸)

^۱ - John Snow

جدول ۱: عوامل بیماریزای منتقله توسط آب و اهمیت آنها در منابع آب آشامیدنی (۶)

عوامل بیماریزا	اهمیت بهداشتی	طرق مواجهه با آنها	پایداری در آب آشامیدنی	مقاومت در برابر کلر	مقدار عفونت‌زایی نسبی	مخزن حیوانی مهم
باکتریها						
کمپیلوباکتر (۱)	بالا	O	متوسط	کم	متوسط	بله
اشرشیاکلی (۲)	بالا	O	متوسط	کم	بالا	بله
سالمونلا تیفی (۳)	بالا	O	متوسط	کم	بالا	خیر
سالمونلاهای دیگر (۴)	بالا	O	طولانی	کم	بالا	بله
شیگلا (۵)	بالا	O	کوتاه	کم	متوسط	خیر
ویبریوکلرا (۶)	بالا	O	کوتاه	کم	بالا	خیر
یرسینیا (۷)	بالا	O	طولانی	کم	بالا	بله
لژیونلا (۸)	متوسط	I	متغیر	متوسط	بالا	خیر
سودوموناس - آئروژنس	متوسط	C, IN	متغیر	متوسط	بالا	خیر
گونه‌های - آلروموناس	متوسط	O, C	متغیر	پایین	بالا	خیر
مایکوباکتریوم (۹)	متوسط	I, C	متغیر	بالا	؟	خیر
ویروسها						
آدنوویروس	بالا	O, I, C	؟	متوسط	پایین	خیر
انتروویروس (۱۱)	بالا	O	طولانی	متوسط	پایین	خیر
هپاتیت A (۱۲)	بالا	O	طولانی	متوسط	پایین	خیر
هپاتیت E	بالا	O	؟	؟	پایین	احتمال دارد
نوروک ویروس	بالا	O	؟	؟	پایین	خیر
روتاویروس (۱۳)	بالا	O	؟	؟	متوسط	خیر (؟)
ویروسهای کوچک دایره شکل بجز نوروک ویروس	متوسط	O	؟	؟	پایین	خیر
تک یاخته‌ها						
انتاهیا هستیور (۱۴) - لیتیکا	بالا	O	متوسط	بالا	پایین	خیر
زباردیا اینتیس - تینالیس (۱۵)	بالا	O	متوسط	بالا	پایین	بله
کریبتوسپور - بدیوم پاروم (۱۶)	بالا	O	طولانی	بالا	پایین	بله
گونه‌های اکانتامبا	متوسط	C, I	متغیر	بالا	؟	خیر
نگلریافاولری (۱۷)	متوسط	O	متغیر	متوسط	پایین	خیر
بالانتیدیوم کلی (۱۸)	متوسط	O	؟	متوسط	پایین	بله
کرماها						
دراکونکولوس - مدیتنسیس (۱۹)	بالا	O	متوسط	متوسط	متوسط	بله
گونه‌های شیسستوزوما (۲۰)	متوسط	C	کوتاه	پایین	پایین	بله

زیرنویس جدول:

؟ شناخته نشده یا نامعین است

(۱) O = دهانی، I = تنفس آئروسول C = تماس با پوست، IN = ورود از طریق دهان

در بیمارانی که سیستم ایمنی آنها تضعیف شده است.

(۲) هدف زمان تشخیص آنها در مرحله عفونی در آب در دمای ۲۰ درجه

سانتیگراد کوتاه = تا یک هفته، متوسط = یک هفته تا یک ماه، طولانی = بیش از یک ماه

(۳) مقاومت در برابر کلر: متوسط = عوامل بیماریزا بطور کامل از بین نمی‌روند.

کم = عوامل بیماریزا بطور کامل از بین می‌روند.

(۴) مقدار مورد نیاز برای اینکه در ۵۰ درصد افراد سالم ایجاد بیماری کند.

بطور کلی در جوامعی که سطح بهداشت محیط پائین می‌باشد احتمال انتقال این بیماریها بیشتر می‌باشد. دفع غیربهداشتی فاضلاب باعث پراکندگی فضولات انسانی در محیط می‌گردد و آلودگی خاک و آب را در پی خواهد داشت. هم چنین کاربرد فضولات انسانی به عنوان کود در کشاورزی در بعضی از جوامع و یا استفاده از فاضلابها بدون تصفیه یا با تصفیه ناقص جهت آبیاری محصولات کشاورزی یکی از راههای مهم انتقال این بیماری می‌باشد. ویبریوکلا در مواد دفعی انسان آلوده (مدفوع یا استفراغ) به فاضلاب وارد شده و از آن طریق در صورت نبود یک سیستم جمع‌آوری فاضلاب مناسب، باعث آلودگی آبهای سطحی و زیرزمینی می‌گردد. گزارشات محدودی در رابطه با مدت زمان زنده ماندن ویبریوکلا در آب وجود دارد

اکثر گونه‌های ویبریو همیشه در محیط‌های آبی دریائی و ساحلی و هم چنین در آب شیرین که حداقل میزان سدیم دارند یافت می‌شود.

ویبریوکلا مدت زمان طولانی به عنوان یک استثنا در نظر گرفته می‌شد و عقیده بر آن بود که یک ارگانیسم محیطی نمی‌باشد. (۳) اما وجود این ارگانیسم در آب نیز فقط از طریق آلودگی آب یا فاضلاب می‌باشد. بنابراین تا اواخر دهه ۱۹۷۰ به عقیده اکثر محققین ویبریوکلا به عنوان ارگانیسمی در نظر گرفته می‌شد که محل زندگی آن روده انسان بود و قادر به ادامه حیات تا بیش از چند روز در خارج از روده انسان نبود. دلیل این عقیده این بود که این ارگانیسم از آب جداسازی نمی‌شد مگر در زمانی که موارد بیماری در آن محل اتفاق می‌افتاد. در خلال اپیدمی‌ها، ویبریوکرای توکسیژنیک O1 و یا O139 را می‌توان از آب آلوده و هم چنین بیماران جدا نمود، اما بعد از فروکش کردن اپیدمی این باکتری ناپدید می‌شود.

تکنیک‌های غنی‌سازی متداول برای جداسازی ویبریوکلا از آب بندرت با موفقیت همراه است. تکنیک‌های پیشرفته‌تر با استفاده از ایمونو فلورسنس میکروسکوپی مستقیم، هیبریدیزاسیون DNA¹، PCR و روش‌های غنی‌سازی پیشرفته اغلب باعث جداسازی ویبریوکلا O1 و غیر O1 حتی در غیاب باکتریهای متداول شاخص آلودگی مثل اشرشیاکلی یا استرپتوکوک مدفوعی شده است. این امر نشان می‌دهد که ویبریوکلا می‌تواند مدت زمان بیشتری نسبت به ارگانیسم‌های مدفوعی دیگر در محیط زنده بماند، یا اینکه ویبریوکلا یک میکروارگانیسم محیطی نیز می‌باشد.

1-Polymerase chain reaction

چندین بررسی دیگر جهت تعیین انتشار ویبریوکلا در مناطق مختلف جهان انجام گرفته است. این نتایج نشان می‌دهد که ویبریوکلا

می‌تواند در محیط‌های آبی وجود داشته باشد. توزیع ویبریوکلا تحت تأثیر عوامل زیستی مختلف از جمله مواد غیر آلی و آلی آب و ته نشست‌ها، pH، تغییرات درجه حرارت، املاح (شوری)، میزان غلظت اکسیژن و در تماس بودن، اشعه ماوراء بنفش خورشید می‌باشد. (۳)

میلر^۱ مدت زمان زنده ماندن ویبریوکلا در آب دارای دمای ۴ درجه سانتی‌گراد را ۳۴ روز و در یخ ۲۱ روز اعلام نموده است. (۹) بوتین^۲ و همکارانش مدت زمان زنده ماندن ویبریوکلا در آب دریا (آب شور) را ۲۱ روز عنوان نموده‌اند. (۱۰)

ویبریوکلا در محیط آب به انواعی از جلبک، حلزون، سخت‌پوست و زئوپلانکتون‌ها متصل شده و در شرایط مساعد دما، درجه شوری و وجود مواد غذایی مناسب تکثیر یافته و بدین ترتیب به مدت چندین سال در چنین محیطی در شرایط زندگی آزاد و بدون نیاز به انسان به حیات خود ادامه می‌دهد، و در صورتیکه شرایط نامساعد گردد از حالت فعال متابولیکی به حالت نهفته تغییر وضعیت می‌دهد، بطوریکه در محیط کشت استاندارد و محیط‌های غنی شده قابل کشت نمی‌باشد و در عین حال قادر به ادامه حیات و تداوم بقا در شرایط سخت می‌باشد و تنها با فناوری ایمونوفلورسانس و استفاده از پادتن‌های مونوکونال می‌توان ویبریوهای نهفته را شناسائی نمود. این تغییر حالت فعال به غیرفعال و به عبارت دیگر قابل کشت به غیرقابل کشت در شرایط آزمایشگاهی و در انسان‌های داوطلب نیز به اثبات رسیده است. در مجموع ممکن است این شکل ویبریو در مقابل کلرنزی آب نیز مقاوم باشد. ویبریوهای

^۱ - Miller

^۲ - Boutin

التور در فاضلاب تا بیش از یک ماه مقاومت می‌کنند. هم چنین ویبریوکلا در آبهای قلیائی، pH بین ۸/۲ تا ۹/۷ و حاوی کلراید و مواد مغذی آلی مقاومت بالائی دارند. بررسی‌های متعدد نشان می‌دهد ویبریوکلا بطور گسترده در محیط‌های آبی مناطق حاره و معتدل وجود دارد و میزان مواد آلی و غیرآلی، میزان املاح آب، شوری آب، دما، pH آب، تغییرات اکسیژن و تماس با اشعه ماوراء بنفش در توزیع و بقای این میکروارگانیسم در محیط‌های آبی مؤثر می‌باشد. یک ارتباط خطی بین ویبریوکلا با شوری مشاهده شده است. بدین ترتیب در محیط‌هایی که شوری آن بین ۰/۲ تا ۲ درصد است ویبریوکلا با فراوانی بیشتری جدا شده است. تأثیر دما، شوری و pH آب در بقاء و رشد ویبریوکلا O1 در همزیستی با سخت پوستان آبهای شیرین و شور مورد بررسی قرار گرفته است. بطوریکه ۱۵ درصد شوری، دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و pH برابر ۸/۵ باعث افزایش اتصال و تکثیر ویبریوکلا بر روی سخت پوستان خواهد شد.

همزیستی ویبریوکلا با محدوده وسیعی از آبزیان مشاهده شده است که شامل سیانوباکتر، دیاتومه، جلبک سبز رشته‌ای، خرچنگ آبی، پرتوزئرها و... می‌باشد.

ویبریوکلا بوسیله کیتین و موکوسی که تولید می‌نماید به انواع ارگانیسم‌های آبزی می‌چسبد، بنابراین توصیه شده است که در شرایط همه‌گیری در کلنی‌های سطح جلبک‌ها، فیتوپلانکتون‌ها و در گیاهان آبی، جستجو شود. در یک همه‌گیری منطقه‌ای در رود دلتای گانگ، سخت‌پوستان آبزی از کیتین تولید شده توسط ویبریوکلا بعنوان منبع غذائی استفاده کرده‌اند. ویبریوکلا حتی در آبهای آشامیدنی که

بصورت مناسب نگهداری و ذخیره می‌شوند می‌تواند رشد و تکثیر نماید و در محیط‌های آبی همراه سیانو باکتر، جلبک‌ها و زئوپلانکتون‌ها می‌تواند یافت شود. (۳)

۷- پیش‌گیری و کنترل بیماری وبا

مهمترین عامل در شیوع و گسترش بیماری‌های واگیر بخصوص وبا را می‌توان عدم رعایت معیارهای بهداشتی بخصوص بهداشت فردی و بهداشت محیط عنوان نمود. رعایت بهداشت عمومی و محیط بستگی به عوامل زیادی بخصوص وضعیت اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی افراد جامعه دارد.

اقدامات در رابطه با پیش‌گیری اولیه شامل:

- ۱- ارتقای آگاهی‌های بهداشتی مردم و بخصوص افراد در معرض خطر در خصوص پیش‌گیری از انتقال بیماری وبا
- ۲- تأمین آب آشامیدنی سالم توسط سازمان‌های تأمین کننده آب از نظر کمی و کیفی
- ۳- دفع بهداشتی فاضلاب و مدفوع و فراهم کردن امکانات مناسب برای شستشوی دست‌ها
- ۴- کنترل بهداشتی مواد غذایی در سطوح مختلف تولید، توزیع و مصرف و آموزش به مردم در رابطه با گندزدائی سبزیجات و میوه‌جات.
- ۵- کنترل حشرات بخصوص مگس
- ۶- واکسیناسیون وبا و پیش‌گیری داروئی، گرچه موفقیت در این زمینه زیاد نیست و معمولاً قابل توصیه نمی‌باشد.

- ۷- برقراری سیستم نظارتی در خصوص کنترل آب آشامیدنی از طریق کنترل های کیفی و بازرسی های بهداشتی از تأسیسات آب
- ۸- اعلان به هنگام مشکلات و معضلات به ارگانهای درون بخشی (سطوح بالاتر و) و برون بخشی و پیگیری برطرف شدن آنها.
- ۹- اعلان خطر بالقوه همه گیری به ارگانهای درون بخشی و برون بخشی مرتبط با توجه به نتایج پایشهای محیطی .
- ۱۰- جلب مشارکتهای درون بخشی و برون بخشی.
- ۱۱- مکاتبات و مستند سازی اقدامات به عمل آمده و گزارش دهی.
- ۱۲- برقراری سیستم نظارتی و پایش در سطوح مختلف جهت ارزیابی فعالیت های انجام شده.
- ۱۳- توانمند سازی و حساس سازی نیروهای عملیاتی از طریق برگزاری کارگاه ها و جلسات آموزشی.

۸- اقدامات لازم جهت پیش گیری از انتقال ویبریوکلا توسط آب

همانگونه که در بخش قبل عنوان شد یکی از راههای مهم در کنترل و پیش گیری بیماری وبا تأمین آب سالم و بهداشتی در یک اجتماع می باشد. به منظور کنترل بهداشتی آب آشامیدنی مهمترین اقدام جلوگیری از آلودگی منابع آب یک اجتماع توسط فاضلاب می باشد. در صورتیکه منبع آب سالم باشد. تصفیه و گندزدائی آب اقدامات تکمیلی جهت اطمینان از سالم بودن آبی است که به دست مصرف کننده می رسد. در این بخش اقدامات مناسب جهت کنترل بهداشتی آب ارائه شده است:

۸-۱- دفع بهداشتی مدفوع و فاضلاب

دفع غیربهداشتی مدفوع و فاضلاب خانگی عامل مهمی در آلودگی آب و انتقال بیماری است. ویبریوکلا می‌تواند از طریق فرد آلوده بخصوص در مواقعی که بیماری بروز می‌نماید از طریق مدفوع دفع گردد، بطوریکه در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر فاضلاب ۱۰^۱ تا ۱۰^۴ عدد از این باکتری ممکن است موجود باشد. به منظور جلوگیری از آلودگی محیط به ویژه آلودگی منابع آب، دفع بهداشتی فاضلاب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در بعضی از جوامع بخصوص جوامع روستائی حتی ممکن است از مستراح‌های بهداشتی محروم باشند. توجه به این امر و دفع صحیح فضولات انسانی در پیش‌گیری از آلودگی منابع آب باید در اولویت قرار گیرد. بنابراین در چنین جوامعی جهت حصول اطمینان از دفع بهداشتی مدفوع و فاضلاب موارد زیر باید مورد توجه قرار گیرد:

— بررسی وضعیت توالت‌های موجود برحسب اطلاعات اپیدمیولوژیک بدست آمده، آموزش لازم برای بهسازی آنها با توجه به دستورالعمل‌های بهسازی

— ضدعفونی مستراحها و مدفوع بیماران و حاملین اطراف در منازل و بیمارستان‌ها با استفاده از شیر آهک ۲۰٪ یا کرئولین ۵٪ یا پرکلرین با غلظت ۲۰ ppm.

— از رده خارج کردن آن دسته از مستراحهاییکه موجب آلودگی آبهای سطحی و زیرزمینی می‌گردند و همچنین جلوگیری از ورود فاضلاب‌ها به نهرها.

— ضدعفونی محل‌های آلوده شده به مدفوع و استفراغ بیماران با محلول‌های زکر شده شیر آهک، کرئولین یا پرکلرین. هم چنین می‌توان از هالامید ۵ در هزار استفاده نمود. (۱۱)

تصفیه فاضلاب با فرایندهای متداول و معمول علاوه بر اینکه باعث حذف آلاینده‌های شیمیایی از فاضلاب می‌گردد، در کاهش میکروارگانیسم‌های بیماریزا نقش مهمی را ایفا می‌نماید. بعد از فرایندهای متداول تصفیه مثل ته‌نشینی، تصفیه بیولوژیکی و فیلتراسیون گندزدائی پس آب، مرحله بسیار مهم در از بین بردن عوامل بیماریزا می‌باشد.

طبق مطالعات انجام شده در فرایند لجن فعال که فرایند متداولی جهت تصفیه فاضلاب می‌باشد تانک‌های هوادهی و ته‌نشینی تأثیر زیادی در حذف و غیرفعال نمودن عوامل بیماریزا و پارازیت دارند. هم‌چنین در صافی چکنده نیز حذف عوامل بیماریزا مشاهده شده است. در فرایند لجن فعال راندمان حذف باکتریها برابر ۸۰ تا بیش از ۹۹٪ نیز حاصل شده است. این حذف از طریق غیرفعال شدن، شکار شدن بوسیله سیلیاته‌ها، جذب بر روی جامدات لجن، یا به تله افتادن در داخل لخته‌های لجن و ته‌نشینی می‌باشد. حذف ویروس‌ها، پروتوزوئرها، پارازیت و تخم کرم‌ها نیز در این فرایندهای تصفیه با راندمان‌های ذکر شده اتفاق می‌افتد. در سیستم‌های تصفیه فاضلاب گندزدائی نهائی تکمیل کننده و اطمینان نهائی در حذف عوامل بیماریزا می‌باشد. (۷)

۸-۲ حفاظت و بهسازی منابع آب:

اقدام مهم دیگر جهت جلوگیری از انتقال بیماریها از جمله وبا توسط آب، حفاظت منابع آب از ورود آلودگی بخصوص فاضلابهای خانگی و شهری می‌باشد. حفاظت منابع آب از طریق بهسازی و بهداشتی نمودن

این منابع قابل انجام است. بهسازی منابعی مانند چاه، قنات، چشمه و مخازن آب، طبق دستورالعمل‌های موجود ضروری می‌باشد

- منابع آب زیرزمینی

به طور کلی آب زیرزمینی مناسب‌ترین منبع آب بخصوص برای تأمین آب در اجتماعات کوچک است. این منابع آب برای جلوگیری از ورود مواد آلوده کننده باید حفاظت شوند به همین جهت منابع آب زیرزمینی باید حتی‌الامکان از هرگونه منبع آلودگی مانند مستراح‌ها، سپتیک تانک‌ها، تخلیه فاضلاب و آبهای زهکشی کشاورزی و غیره، دور نگهداشته شوند.

آگاهی از شرایط زمین شناسی محل برای قضاوت در مورد اثرات بالقوه منابع آلودگی موجود در مجاورت چاه یا سایر نقاط برداشت آب بسیار مهم است بخصوص اطلاع از جهت جریان آب زیرزمینی برای اطمینان از عدم وجود هرگونه منبع آلودگی در بالا دست محل برداشت آب، ضروری است. در مناطقی که سنگهای آهکی و سنگهای شکافدار وجود داشته باشند باید کوشش زیادی به عمل آید تا از حداکثر فاصله بین منابع آلوده کننده و محل برداشت آب اطمینان حاصل شود و به دلیل اینکه اغلب، اطلاعات زمین شناسی وجود ندارد بازدید و آزمایش حائز اهمیت است. (۱۲)

سیستم های استخراج آبهای زیرزمینی و بهسازی این منابع در زیر توضیح داده شده است.

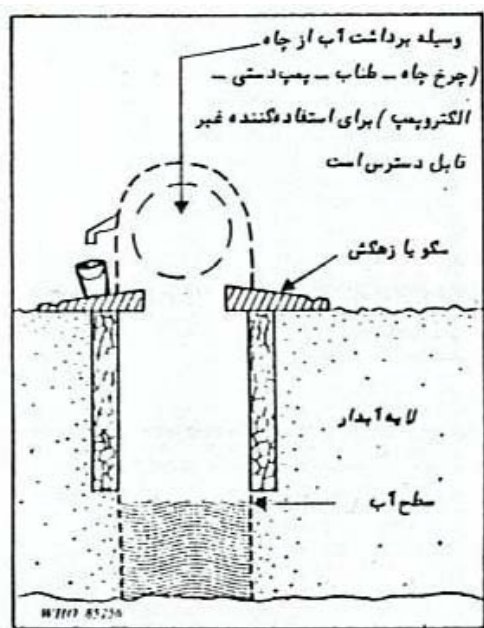
- چاههای دستی

چاههای دستی یکی از متداولترین چاهها می‌باشند و در سراسر دنیا برای استخراج آبهای زیرزمینی مورد استفاده قرار می‌گیرند و آب

آشامیدنی بسیاری از اجتماعات کوچک و خانه‌های شخصی را تامین می‌کنند. چاه‌های دستی آب را از سفره‌های نسبتاً کم عمق نزدیک سطح زمین تامین می‌کنند و بنابراین می‌توانند به آسانی آلوده شوند که متداولترین روش آن نشست از محل‌های دفع فضولات و مدفوع حیوانات می‌باشد.

راه‌های زیادی برای برداشت آب از چاه وجود دارد اما بعضی از روش‌ها به گونه‌ایست که باعث آلودگی آب می‌شوند تنها وقتی که هیچگونه تماسی بین شخصی که آب را برداشت می‌کند و آب چاه وجود نداشته باشد می‌توان سیستم را تا حدودی دارای حفاظت بهداشتی به حساب آورد. نمونه‌ای از یک چاه دستی با حفاظت مناسب

در شکل ۱ نشان داده شده است. (۱۲)



شکل ۱ - چاه دستی حفاظت شده

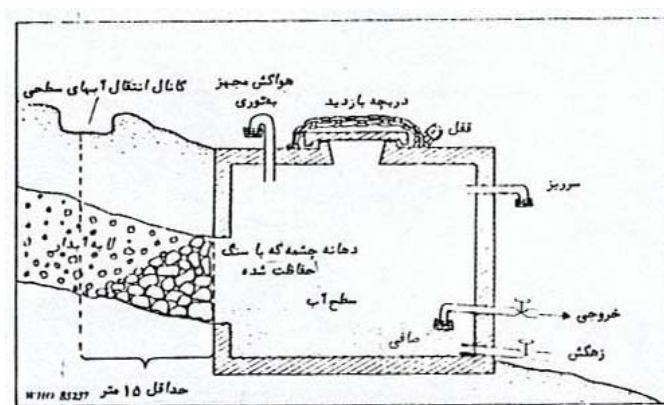
چک لیست برای چاه‌های دستی

آیا سیستم برداشت آب (چرخ چاه، طناب و...) برای استفاده کننده، حیوانات، پرندگان، حشرات و غیره، غیرقابل دسترسی است؟

آیا برگشت آب برداشت شده به داخل چاه غیرممکن است؟
 آیا سکوی غیرقابل نفوذ برای جلوگیری از ورود هرگونه آب سطحی
 به داخل چاه وجود دارد؟ (این مسئله بخصوص در مناطق سیلابی حائز
 اهمیت است)

چشمه‌ها

اگرچه آب چشمه‌ها از سفره‌های آب حفاظت شده منشأ می‌گیرد
 ولی آلودگی می‌تواند در محل برداشت اتفاق افتد. برای جلوگیری از
 ورود آب باران به داخل چشمه باید کانالی به فاصله ۱۵ متری از بالای
 محل جمع‌آوری آب چشمه احداث شود. برای انجام نظافت دوره‌ای یک
 دریچه بازدید لازم است، همچنین زهکشی کف مخزن جمع‌آوری
 بایستی پیش‌بینی شود. به کمک اقدامات حفاظتی باید از دسترسی
 مستقیم انسان و حیوانات به چشمه ممانعت به عمل آید. نمونه‌ای از یک
 چشمه حفاظت شده در شکل ۲ مشاهده می‌شود.



شکل ۲- چشمه حفاظت شده

چک لیست برای چشمه‌ها

آیا کانالی برای انحراف آبهای سطحی وجود دارد؟

آیا مخزن جمع‌آوری دارای دریچه بازدید است؟

آیا لوله زهکشی وجود دارد؟

آیا همه سوراخها به منظور جلوگیری از دسترسی انسان و حیوانات
حفاظت شده است؟

چاههای حفر شده با مته^۱

با حفر چاه دستیابی به سفره‌های آب عمیق که از سطح زمین دور هستند و بنابراین کمتر تحت تأثیر آلودگی قرار می‌گیرند امکان‌پذیر می‌گردد معمولاً آب زیرزمینی باید فاقد آلودگی میکربی بوده و مستقیماً برای آشامیدن قابل استفاده باشد. به هنگام حفر چاه و انتخاب پمپ باید تمهیدات ساختمانی خاصی اتخاذ گردد. لوله جدار چاه بایستی ۳۰ سانتیمتر بالاتر از سطح زمین و ۳ متر پائین‌تر از سطح زمین در محل چاه، امتداد داشته باشد. ممکن است برای احتیاط، گندزدائی آب (کلرنی) قبل از ورود آب به شبکه توزیع لازم باشد. مانند مواردی که امکان آلودگی ثانویه وجود دارد یا توزیع آب به صورت نوبتی انجام می‌شود.

شکل ۳ مقطع عرضی یک چاه حفاظت شده را نشان می‌دهد.

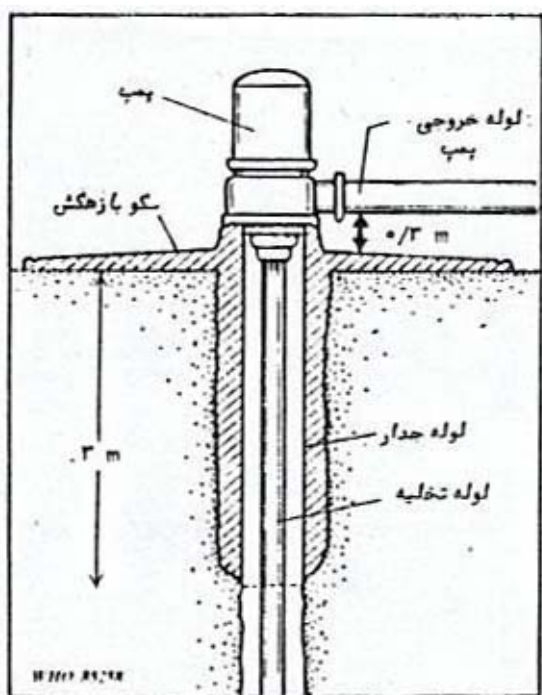
-چک لیست برای چاههای حفر شده-

^۱ - Drilled wells and boreholes

آیا یک سکوی غیرقابل نفوذ و بتن‌ریزی کافی در اطراف لوله جدار برای جلوگیری از ورود آبهای سطحی در نظر گرفته شده است؟
 آیا لوله جدار چاه ۳۰ سانتیمتر بالاتر از سکو قرار دارد و آیا فاقد شکستگی است؟

آیا لوله جدار حداقل ۳ متر زیر سطح زمین امتداد یافته است و آیا فاقد شکستگی است؟

آیا مناطق اطراف چاه دارای زهکشی مناسب برای دور کردن آبهای سطحی از چاه می‌باشد؟ (۱۲)



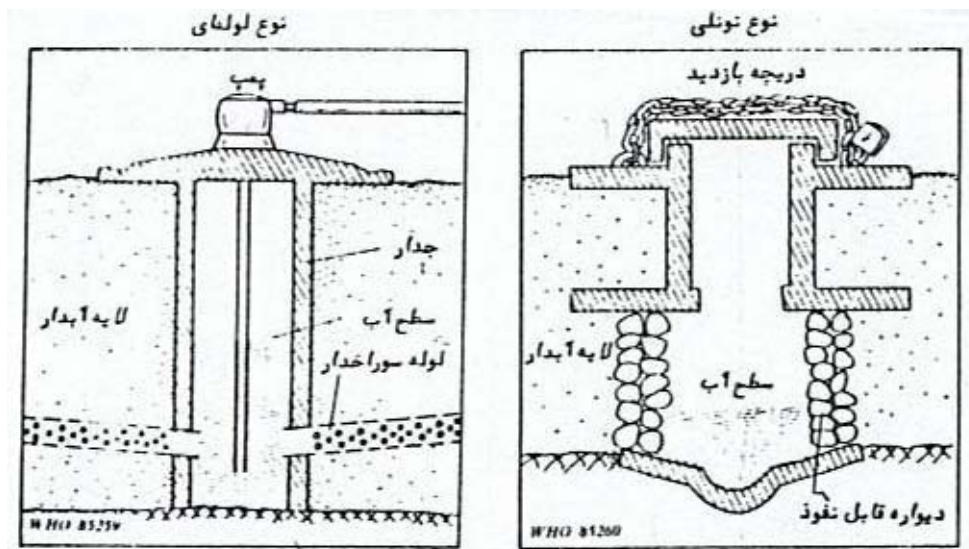
شکل ۳- چاه حفاظت شده

نقب‌های نشت^۱

نقب‌های نشت مجاری افقی مصنوعی هستند که در مجاورت رودخانه یا دریاچه ایجاد می‌شوند و از نظر شکل و اندازه متفاوتند و ممکن است به صورت لوله‌های ساده سوراخدار یا تونل‌هایی با مقطع

^۱ - Infiltration galleries

عرضی نامنظم باشند. نقب‌ها در اعماق مختلف ایجاد می‌شوند، به‌گونه‌ای که مشاهده مستقیم آنها بندرت ممکن است مگر اینکه خیلی وسیع و دارای دریچه بازدید باشند. قسمت‌های قابل مشاهده سیستم باید مورد بازدید قرار گیرد. در صورت امکان بازرسی باید با مراجعه به نقشه‌های طراحی سیستم صورت گیرد. نمونه‌هایی از نقب‌های نشت از نوع تونلی و نوع لوله‌ای در شکل ۴ مشاهده می‌شود.



شکل ۴- نقب‌های نشت حفاظت شده

چک لیست برای نقب‌های نشت

آیا نقب دریچه بازدید دارد؟

آیا دریچه بازدید به وسیله درپوش و قفل حفاظت شده است؟

آیا سکوی غیرقابل نفوذی برای جلوگیری از ورود آبهای سطحی در

نظر گرفته شده است؟

آیا جدارسازی تا ۳۰ سانتیمتری بالای سکو صورت گرفته است و

آیا فاقد شکستگی است؟

آیا جداسازی حداقل به میزان ۳ متر در زیر سطح زمین صورت گرفته است و آیا فاقد شکستگی است؟
آیا مناطق اطراف محل نصب پمپ به خوبی زهکشی می‌شوند؟ (۱۲)

آب سطحی

به دلیل قابلیت و سهولت آلوده شدن آبهای سطحی، آب چنین منابعی بایستی قبل از توزیع تصفیه و گندزدائی شود. انتخاب محل آبیگر در اینگونه موارد حائز اهمیت فراوان است محل آبیگر باید در بالادست رودخانه و حتی‌الامکان دور از محلهای ورود فاضلاب خانگی و صنعتی و تخلیه آبهای زهکشی کشاورزی باشد.

لوله‌های برداشت آب سطحی باید به خوبی محکم شوند و از ساحل رودخانه یا دریاچه به اندازه کافی دور باشند. برای جلوگیری از ورود مواد شناور دهانه لوله آبیگر نباید کمتر از ۳۰ سانتیمتر زیر سطح آب قرار گیرد همچنین نقطه برداشت باید به اندازه کافی از کف رودخانه یا دریاچه بالاتر قرار گیرد تا از ورود لجن به داخل آن جلوگیری شود. حتی در بدترین شرایط پمپهای برداشت باید به اندازه کافی قوی باشند تا در مقابل نیروی جریان آب رودخانه مقاوم باشند. اگر الکتروپمپها مورد استفاده قرار می‌گیرند بایستی کاملاً در مقابل رطوبت حفاظت شوند. (۱۲)

۸-۳ تصفیه آب آشامیدنی

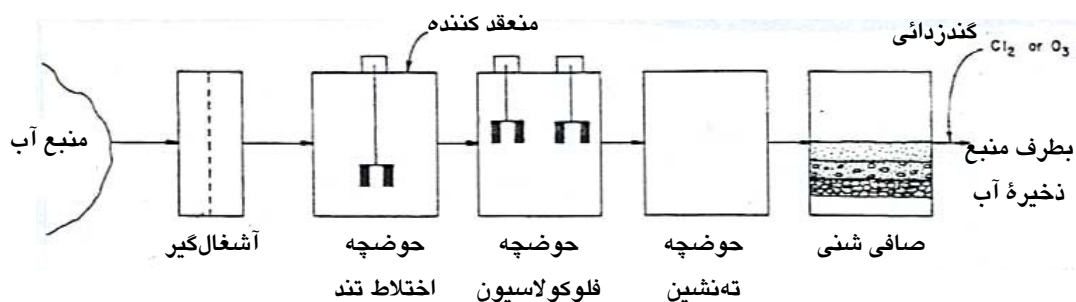
بطور کلی آب ممکن است حاوی آلاینده‌های شیمیایی و بیولوژیکی باشد که این آلاینده‌ها باید جهت تولید آب آشامیدنی بطور مؤثری حذف گردند. آب تولیدی باید سالم و از نظر خصوصیات ظاهری برای مصرف کننده قابل قبول باشد. آلاینده‌های شیمیایی شامل نیترات، نیتريت، فلزات سنگین، رادیونوکلئیدها، حشره‌کش‌ها و... می‌باشد. همچنین آب تولیدی باید از عوامل میکروبی بیماریزا، پارازیت‌ها، کدورت، رنگ، طعم و بو عاری باشد. برای رسیدن به این هدف آب خام (با سطحی یا زیرزمینی) تحت یک سری از فرایندهای فیزیکیوشیمیایی مورد تصفیه قرار می‌گیرد.

گندزدائی به تنهائی، زمانی کافی می‌باشد که منبع آب خام بخوبی حفاظت شده باشد. همانگونه که عنوان شد آبهای زیرزمینی از کیفیت مناسبتری برای شرب برخوردار می‌باشند و نسبت به آبهای سطحی کمتر در معرض آلودگی قرار دارند، ولی بهرحال برحسب کیفیت آب زیرزمینی و احتمال آلودگی آن ممکن است به تصفیه و گندزدائی و یا اغلب گندزدائی به تنهائی نیاز داشته باشد. بخصوص در چاههای کم عمق سرباز که در معرض آلودگی بوسیله انسان و حیوان و سایر منابع آلوده کننده می‌باشد.

معمولاً چندین فرایند برای تصفیه آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. گندزدائی ممکن است با کوآگولاسیون، فلوکولاسیون و فیلتراسیون ترکیب گردد. تصفیه‌های اضافی برای حذف ترکیبات خاص، شامل تصفیه با کربن فعال یا پیش هوادهی می‌باشد.

نوع فرایندهای تصفیه به کیفیت منبع آب خام بستگی دارد. بطور کلی دو نوع تصفیه‌خانه آب اغلب مورد استفاده قرار می‌گیرد:

— تصفیه خانه‌های متداول، این تصفیه خانه‌ها اغلب در مقیاس بزرگ و کوچک (برای جوامع بزرگ و کوچک) مورد استفاده قرار می‌گیرد. شکل ۵ نمودار یک تصفیه خانه متداول را نشان می‌دهند فرایندهای مهم در این نوع تصفیه خانه کوآگولاسیون و فیلتراسیون می‌باشد. آب خام به سرعت اختلاط داده می‌شود و همزمان یک ماده منعقد کننده (سولفات آلومینیوم، کلروفریک و سولفات فریک یا فرو) اضافه می‌شود. بعد از کوآگولاسیون لخته‌های تشکیل شده ته‌نشین می‌شوند. آبی که فرایند ته‌نشینی را گذرانده است. از درون یک صافی (فیلتر) شنی یا فیلتر خاک دیاتومه عبور داده می‌شود. آب در نهایت قبل از اینکه به شبکه توزیع وارد شود گذردائی می‌گردد.



شکل ۵- دیاگرام یک تصفیه خانه متداول آب

— تصفیه خانه‌های با عمل سختی‌گیری: فرایند مهم در این تصفیه خانه‌ها نرم کردن آب یا گرفتن سختی آب است. که در نهایت کلسیم و

منیزیم به شکل رسوب از آب جدا می‌شوند. بعد از ته‌نشین دادن رسوبات، آب از صافی عبور داده شده و قبل از مصرف گندزدائی می‌گردد.

در تصفیه‌خانه‌های آب، عوامل میکروبی پاتوژن و پارازیت‌ها می‌توانند بطور فیزیکی از طریق فرایندهایی مثل کوآگولاسیون، ترسیب، فیلتراسیون و جذب حذف گردند و یا توسط فرایند گندزدایی یا بوسیله pH بالا در نتیجه فرایند سختی‌گیری از آب غیرفعال گردند. (۷)

مطالعات زیادی در رابطه با حذف عوامل میکروبی توسط فرایندهای تصفیه آب انجام شده است. بطوریکه این مطالعات نشان می‌دهد این فرایندها توانائی حذف ویروس‌ها، باکتری‌ها، پروتوزئرها و پارازیت‌ها را با درصد بالایی دارا می‌باشند. بعنوان نمونه نتایج چند مطالعه در جدول ۲، ۳ و ۴ بطور خلاصه ارائه شده است. (۷ و ۱۳)

جدول ۲: میزان ویروس‌ها (PFU/100ml) در مراحل مختلف تصفیه خانه آب (۷)

Sampling Event	Stored	Sedimentation	Sand Filtration	Ozonatione
1	10.4	<25	9.1	<1
2	6.1	132	<1	<1
3	100	75	<2	<2
4	90	5	<1	<1
5	10	20	3	<1
6	30.7	10	5	<1

همانگونه که جدول ۲ نشان می‌دهد فرایندهای ته‌نشینی و فیلتراسیون (بخصوص فیلتراسیون) باعث حذف درصد بالایی از ویروس‌ها می‌گردد.

جدول ۳ مطالعه دیگری در رابطه با حذف ویروس‌ها در تصفیه خانه‌های آب می‌باشد. درصد حذف بالاتر از ۹۹٪ نیز می‌تواند در بعضی موارد حاصل گردد

جدول ۳: حذف ویروس‌ها بوسیله فرایندهای کوآگولاسیون و

ته‌نشینی (۷)

Coagulant	Conen of Coagulant (ml/L)	Clay (mg/L)	virus	Removals	
				Virus (%)	Turbidity (%)
Alum	10	50	Poliovirus 1	86	96
	25.7	120	Phage T4	98	99
	25.7	120	Phage MS2	99.8	98
Ferric sulfate	40	-	Poliovirus 1	99.8	-
	40	-	Phage T4	99.8	-
Ferric chloride	60	50	Poliovirus 1	97.8	97.5
	60	100	Poliovirus 1	93.3	97.8
	60	500	Poliovirus 1	99.7	99.9

مطالعات انجام شده جهت حذف پروتوزئرها نیز نشان دهنده آن است که این فرایندها بخصوص فرایند فیلتراسیون (با استفاده از فیلترهای شنی کند، تند) باعث حذف این ارگانیسیم‌ها می‌گردد. بطوریکه

درصد حذف ۹۰ تا بیش از ۹۹ درصد حاصل شده است. مطالعات انجام شده بر روی حذف کریپتوسپوریدیوم، ژیاوردیلامیلیا، کیست آنتوموبا هیستولیتیکا، بوده است. (۱۳)

هم چنین حذف باکتری‌های مثل کلیفرم‌ها، استرپتوکوک‌ها، سالمونلاتیفی، شمارش بشقابی باکتری‌های هتروتروف و... نیز نشان دهنده درصد بالای حذف می‌باشد. (۱۳)

بررسی‌های انجام شده نشان داده است که ویبریوکلا در خلال فرایند تصفیه آب بخصوص در صافی‌های شنی کند بخوبی حذف می‌شود. دیگر روش‌های تصفیه آب مانند کوآگولاسیون، فلوکولاسیون ته‌نشینی و فیلتراسیون تند نیز باعث حذف درصد بالایی از ویبریوکلا می‌گردد. (۷)

۴-۸ گندزدائی

اهمیت گندزدائی آب آشامیدنی در کنترل آلودگی میکروبی آب کاملاً آشکار است هرچند ممکن است آب در منشاء دارای کیفیت خوبی باشد اما می‌تواند در طی انتقال، انجام عملیات تصفیه و ذخیره‌سازی یا توزیع آلوده شود. انجام گندزدائی آب به طور صحیح که معمولاً با استفاده از کلر انجام می‌شود خطر بیماری‌های منتقله توسط آب را به حداقل خواهد رسانید.

گندزدائی، از بین بردن میکروارگانیسم‌های عامل بیماری در آب می‌باشد. استفاده از کلریناسیون آب عمدتاً از اوایل قرن بیستم برای تأمین ایمنی بیشتر در مقابل عوامل بیماری‌زا شروع شد. و تا بحال نیز مهمترین عامل گندزدای مورد استفاده در سالم سازی آب می‌باشد.

گرچه در سالهای اخیر مشخص گردیده است که کلرزنی آب می‌تواند منجر به تشکیل فرآورده‌های جانبی گردد که این فرآورده‌ها می‌توانند اثرات بهداشتی بر روی انسان داشته باشند. هم‌چنین مشخص گردیده است که بعضی از عوامل بیماریزا یا پارازیت‌ها در مقابل گندزداها مقاومت بیشتری را نسبت به میکروارگانیسم‌های شاخص دارند.

بطور کلی تفاوت میکروارگانیسم‌ها به گندزداها را می‌توان با توجه

به نوع میکروارگانیسم به شکل زیر در نظر گرفت. (۷)

کیست پروتوزوئرها < باکتریهای تشکیل دهنده اسپور > ویروس‌های روده‌ای < باکتری در حالت رویش با توجه به این مطلب ویبریوکلا را می‌توان جزو باکتریهای در نظر گرفت، که در مقابل عوامل گندزدا مقاومت زیادی نخواهد داشت. گرچه اخیراً گزارش شده است که ویبریوکلا O1 و غیر O1 ممکن است با تولید اپوکسی ساکارید به شکل چروکیده درآمده که در برابر کلر و سایر گندزداها مقاومت بیشتری را نشان می‌دهد. (حتی در میزان بالاتر از ۲ میلی‌گرم در لیتر) و در انتقال بیماری و با از طریق آب نقش دارد. بنابراین در مواقعی که خطر آلودگی آب و انتقال بیماری وجود دارد باید به این نکته توجه نمود. (۳)

در گندزدائی دو عامل مهم مورد توجه غلظت ماده گندزدا و زمان تماس می‌باشد. بطوریکه طبق قانون واتسن ارتباط بین غلظت ماده گندزدا و زمان تماس به شکل زیر می‌باشد:

$$K=C^n \times t$$

که K = ثابت، به میکروارگانیسم و شرایط ویژه محیطی بستگی دارد.
 C = غلظت ماده گندزدا (mg/l) ، t = زمان لازم برای از بین بردن درصد خاصی از میکروارگانیسم (min) و n = ثابت که هم‌چنین «ثابت

رقیق‌سازی» نامیده می‌شود. وقتی زمان در برابر C روی یک کاغذ تمام لگاریتمی رسم می‌شود، n برابر شیب خط است. مقدار n تعیین‌کننده اهمیت غلظت ماده‌گندزدا یا زمان تماس در غیرفعال کردن میکروارگانسیم می‌باشد. اگر $n < 1$ باشد، گندزدائی بیشتر تحت تأثیر زمان تماس می‌باشد و اگر $n > 1$ باشد میزان ماده‌گندزدا فاکتور کنترل‌کننده گندزدائی است. گرچه مقدار n اغلب نزدیک به واحد می‌باشد.

کلر به شکل کلر خالص (گاز کلر) یا ترکیبات کلر مثل هیپوکلریت سدیم و هیپوکلریت کلسیم برای گندزدائی آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. بهر حال کلر در آب با توجه به pH آب، درجه حرارت، وجود ترکیبات از ته ممکن است به سه شکل HOCL، OCL، NH_2CL درآمده که این سه عامل می‌توانند باعث گندزدائی آب گردند. از بین این سه ترکیب، اسیدهیپوکلروس (HOCL) بیشترین تأثیر را در غیرفعال کردن میکروارگانسیم‌ها در آب و فاضلاب دارد.

کلر، بخصوص HOCL، معمولاً به اندازه کافی جهت از بین بردن عوامل پاتوژن و باکتریهای شاخص مؤثر می‌باشد. مطالعات نشان داده است که گندزدائی آب با کلر کمتر یا مساوی یک برای مدت زمان ۳۰ دقیقه تعداد باکتریها را به نحو مؤثری با راندمان بالا کاهش داده است. بطوریکه کمپلیوباکتر ججونی، در حضور کلر آزاد با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان تماس ۵ دقیقه، ۹۹٪ کاهش داشته است. (۱۴)

برای باکتری ویبریوکلا نیز چنین کاهشی را می‌توان متصور بود. بنابراین گندزدائی مؤثر، باقیمانده مناسب کلر می‌تواند در از بین بردن این باکتری بسیار مؤثر باشد. بطوریکه در مواقعی که خطر انتقال این

باکتری وجود دارد نگه‌داری کلر باقی مانده در آب بیش از ۰/۵ ppm و زمان تماس بیشتر کلر با آب توصیه شده است.

در شرایطی که کلریناسیون در محل مصرف مدنظر باشد، مثلاً در شرایط اضطراری، شرایط روستائی و اجتماعات کوچک، محلول مادر ۱٪ توصیه می‌شود. ۴ قاشق چایخوری هیپوکلریت کلسیم (۱۶ گرم) به یک لیتر آب اضافه می‌شود. معمولاً سه قطره از این محلول به یک لیتر آب مورد گندزدائی اضافه می‌شود و ۲۰ تا ۳۰ دقیقه زمان تماس لازم است.

ازن از ترکیبات دیگری است که جهت گندزدائی آب قابلیت استفاده دارد. ازن را بوسیله تخلیه الکتریکی در اکسیژن یا هوای خشک، تولید فوتوشیمیائی با کمک پرتو فرابنفش و الکترولیز اسید سولفوریک یا پراستیک در محل مصرف تولید می‌کنند. ازن مانند کلر بعنوان یک اکسید کننده در pHهای اسیدی بهتر عمل می‌کند. از لحاظ قدرت اکسید کنندگی ازن برتر از کلر است. (پتانسیل رودکس ازن و کلر بترتیب ۲/۰۰۷ و ۱/۳۶ ولت است) کیفیت شیمیائی و میکروبی آب شرب با استفاده از ازن بهتر خواهد بود، ولی بعلت هزینه بیشتری که برای تولید و بهره‌برداری از ازن در مقایسه با کلر وجود دارد، رواج آن کمتر است. هم چنین ازن، باقیمانده مؤثری در آب بجا نمی‌گذارد.

ازن باید در محل مصرف تهیه شود و جریان گاز که معمولاً حاوی ۱ تا ۸٪ وزنی ازن است به جریان آب مورد نظر با برقرار نمودن شرایط مناسب تماس گاز/ آب اضافه می‌شود. در حالی که ازن شدیداً فعال است و مدت زیادی در آب باقی نمی‌ماند، همان مدت کوتاه برای به انجام رساندن گندزدائی کافی می‌باشد. تأمین مقادیر حدود ۴/ تا ۵/.

ppm ازن محلول باقی مانده سابقاً در ردیف اهداف گندزدائی آب شرب برای کشورهای اروپائی محسوب می‌شد زیرا این مقدار کافی برای حصول ۹۹/۹٪ نابودسازی ویروس‌های فلج اطفال در عرض ۴ تا ۶ دقیقه می‌باشد. زمان تماس در حال حاضر در دامنه ۴ تا ۱۲ دقیقه منظور می‌شود.

طبق مطالعات انجام شده باکتریهائی مثل اشرشیاکلی و سالمونلا نسبت به ازن خیلی حساس می‌باشند و غلظت‌های بسیار جزئی ازن در مدت کوتاه باعث نابودی آنها می‌شود. (۱۵)

ید نیز بعنوان یک گندزدائی با قدرت گندزدائی بالا می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. در سال ۱۸۳۰ تنتورید در آمریکا ساخته شد که اولین محلول ۵٪ ید بود که در الکل رقیق تهیه شده بود. در شرایط کاربرد خانگی و اضطراری دو قطره از محلول تنتورید ۲٪ برای یک لیتر آب و زمان تماس ۱۵ دقیقه مناسب می‌باشد. (7)

در مناطق روستائی یا در شرایط اضطراری که حداقل امکانات جهت سالم‌سازی آب وجود دارد استفاده از مواد گندزدا مانند پرکلرین و آموزش مردم در استفاده از آن دارای اهمیت می‌باشد.

۹- پایش ویبریوکلرا در آب

پایش آب جهت اطمینان از سالم بودن آب از جنبه‌های مختلف بویژه از نظر میکروبی و جلوگیری از انتقال بیماری‌های واگیر از جمله بیماری وبا بسیار مهم و انجام بازرسی‌های بهداشتی مداوم و نمونه‌برداری از آب جهت آزمایش‌های میکروبی (از منبع آب، تصفیه خانه و شبکه توزیع) ضرورت دارد.

بطور کلی، آب آشامیدنی نباید حاوی هیچگونه میکروارگانیسم بیماری‌زائی باشد. هم چنین آب آشامیدنی باید عاری از باکتری‌های شاخص آلودگی مدفوعی باشد. برای اطمینان از اینکه آب آشامیدنی این توصیه‌ها را تأمین می‌نماید، نمونه‌های آب باید بطور مرتب برای تشخیص آلودگی مدفوعی مورد آزمایش قرار گیرد. برای این منظور مهمترین باکتری‌هایی که به عنوان شاخص پیشنهاد شده‌اند، باکتری‌های گروه کلیفرم در درجه اول و بعد از آن باکتری‌های استرپتوکوک مدفوعی و کلستری‌دیوم پر فرنژنس می‌باشند. گرچه استانداردهای میکروبی آب از طرف سازمان جهانی بهداشت براساس باکتری‌های گروه کلیفرم (مجموع کلیفرم‌ها و کلیفرم‌های گرم‌پای) می‌باشد.

نمونه‌های آب طبق اصول و دستورالعمل‌های استاندارد موجود در ظروف استریل برداشت و به آزمایشگاه منتقل و در اسرع وقت مورد آزمایش قرار می‌گیرند. آزمایش‌های معمول میکروبی شامل تعیین کلیفرم‌ها و کلیفرم‌های گرم‌پای یا اشرشیاکلی کلی می‌باشد. نتایج آنها براساس استانداردهای موجود در رابطه با کیفیت میکروبی آب قضاوت می‌شود.

آزمایش کلیفرم‌ها براساس تخمیر چند لوله‌ای، صافی غشائی و یا تست P/A¹ انجام می‌شود که در دستورالعمل‌های موجود و منابع هرکدام به تفصیل بیان شده‌اند.

طبق استاندارد باکتریولوژیکی آب که براساس کلیفرم‌ها بنا شده است، معمولاً آبی سالم تلقی می‌گردد که در نمونه برداری‌های مکرر آلودگی به کلیفرم‌ها بخصوص کلیفرم‌های مقاوم به حرارت یا اشرشیاکلی ملاحظه نگردد. در ضمیمه ۲، استاندارد باکتریولوژیکی آب آشامیدنی مربوط به سازمان جهانی بهداشت، و استاندارد باکتریولوژیکی آب آشامیدنی که در کشور ما مورد قبول می‌باشد آمده است. بطور معمول در پایش‌های مداوم کنترل کیفی آب آشامیدنی از نظر میکروبی آزمایش‌های مربوط به باکتریهای بیماریزا از جمله ویبریوکلرا معمول نمی‌باشد. ضرورت آزمایش و تشخیص این باکتری زمانی می‌باشد که موارد این بیماری در یک اجتماع دیده شده و این بیماری شیوع پیدا نماید. بخصوص در این زمان کنترل‌های بهداشتی، آزمایش‌های مربوط به باکتریهای شاخص (مثل کلیفرم‌ها و استرپتوکوک‌های مدفوعی) باید با دقت و تعداد دفعات بیشتری انجام شود. اهمیت جستجوی ویبریوکلرا همراه با آزمایش‌های مربوط به باکتریهای شاخص به این علت است که، همانگونه که ذکر شد این باکتری ممکن است در غیاب باکتریهای شاخص در آب، وجود داشته باشد. از طرف دیگر تعیین حضور ویبریوکلرا در منابع آب خام قبل از بروز بیماری می‌تواند به عنوان زنگ خطر جهت تشدید اقدامات پیشگیرانه باشد.

۱-Presence/Absence

بنابراین در زمانی که موارد این بیماری ملاحظه می‌شود و یا شیوع پیدا نماید (حتی در صورتیکه منشاء آن آب نباشد) علاوه بر اینکه بازرسی‌های بهداشتی سیستم تأمین آب باید تشدید شود (و بالطبع اقدامات اصلاحی اگر لازم است انجام شود) آزمایش مربوط به بررسی و تشخیص ویبریوکلا در آب آشامیدنی، (در منبع و شبکه توزیع) و اگر منبع آب سطحی می‌باشد علاوه بر آب، ممکن است این باکتری بر روی فیتوپلانکتون‌ها، زئوپلانکتون‌ها و ته‌نشست‌ها و رسوبات مورد آزمایش قرار گیرد.

نمونه‌های آب باید در بطری‌های استریل تحت دستورالعمل‌های استاندارد جمع‌آوری شوند. مقدار حجم لازم برای آزمون ویبریوکلا در آب حداقل ۳ تا ۵ لیتر است، گیاهان در کیسه‌های پلی‌اتیلن استریل و فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها با نمونه‌گیری از رشته‌های پلانکتونها در بطری‌های شیشه‌ای و رسوبات نیز در کیسه‌های پلی‌اتیلن نمونه‌برداری و جمع‌آوری شوند. (۳)

نمونه‌ها باید در داخل یک محفظه خنک (دما 10°C -۴) نگهداری و در عرض ۶ ساعت جهت آزمون به آزمایشگاه انتقال داده شوند. (۲ و ۱۶)

- روش آزمایش ویبریوکلا

روش آنالیز براساس تغلیظ، غنی‌سازی نمونه، کشت بر روی محیط انتخابی و آزمون‌های تأییدی آن است. از آنجا که روش‌های تغلیظ متعددی وجود دارد، جهت اطلاع و آگاهی به آنها در ذیل اشاره می‌شود

ولی برای نمونه آبهای آشامیدنی روش تغلیظ با استفاده از صافی غشائی توصیه می‌شود.

روشهای تغلیظ

۱- روش محیط دیاتومه‌ای

۲- نمونه‌گیری با حجم بالا

۳- روش فیلتر غشائی

۴- روش سواب

روشهای تغلیظ

الف - روش محیط دیاتومه‌ای: توانایی فیلتراسیون محیط‌های دیاتومه‌ای ممکن است برای تغلیظ مقادیر بالای میکروارگانیسم‌های موجود در یک نمونه استفاده شود.

برای این منظور یک فیلتر جذب کننده (نه فیلتر غشائی) را روی قیف مخزن فیلتر غشایی قرار داده و قیف را در جای خود وصل کنید و یک محیط دیاتومه‌ای استریل و مناسب را درون قیف بطور آزادانه قرار دهید. ۲ لیتر از نمونه را به آهستگی فیلتر کنید. بعد از فیلتراسیون قیف را باز کنید و نیمی از فیلتر را با یک چاقوی تیز استریل جدا کنید و به محیط مغذی مناسب اضافه نمایید. البته می‌توان تمام فیلتر را در محیط مغذی قرار داد.

ب - نمونه‌گیری با حجم بالا

در این روش از یک فیلتر که جنس آن از میکرو فیبرهای شیشه‌ای بروسیلیکات به همراه ترکیبی از رزین اپوکسی است برای آزمایش

چندین لیتر یا تمام نمونه مورد استفاده قرار می‌گیرد البته کدورت نمونه باید در حدی باشد که مانع فیلتراسیون نشود.

ابزار: ابزار را که شامل یک فیلتر کارتریج (۶/۷×۲/۵cm) و یک گیره می‌باشد برای ۱۵ دقیقه در ۱۲۱°C در اتوکلاو استریل کنید. وسایل استریل شده فیلتر را (که بصورت سری با یک لوله به یک مخزن ۲۰ لیتری و پمپ خلاء متصل شده‌اند) به منظور تعیین حجم نمونه فیلتر شده بطور دقیق کالیبره کنید.

حجم مناسبی (مورد نیاز) از نمونه را فیلتر کنید. زمانیکه فیلتراسیون کامل شد فیلتر را بردارید و در یک محیط مغذی انتخابی یا اختصاصی قرار دهید.

ج - روش فیلتر غشایی:

به منظور آزمایش آب‌های کم کدورت استفاده می‌شود که در آن چند لیتر از نمونه را با یک غشاء استریل با قطر ۴۲ میلی‌متر و سوراخهای ۰/۴۵ میکرومتر فیلتر می‌کنند. برای آزمایش آب‌های کدر یک لیتر محیط معلق دیاتومه‌ای و استریل را بسازید (با آب مقطر و غلظت ۵g/l) و حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر آنرا فیلتر کنید و سپس بدون توقف عمل فیلتراسیون سریعاً نمونه (۱ لیتر یا بیشتر) را به محلول کلوئیدی باقیمانده اضافه کنید و عمل فیلتراسیون را ادامه دهید بعد از فیلتراسیون غشاء را در یک مخلوط‌کن حاوی ۱۰۰ml آب پیتونه استریل ۱٪ قرار دهید و به مدت یک دقیقه در بالاترین سرعت هموژنیزه کنید. تمام محلول هموژنیزه را به ۱۰۰ میلی محیط مغذی اختصاصی که دارای غلظت دو برابر آب پیتونه اضافه کنید.

د - روش سواب (Swab)

از یک پارچه نخی با عرض ۲۲cm و طول ۳۶cm که ۵ بار تابیده شده تعدادی سواب تهیه کنید (با عرض ۴/۵cm آن را تکه کنید) سپس سوابها را با سیم محکم ببندید و برای تعلیق سواب در آب استفاده کنید. سپس سواب را بردارید و در یک محفظه قرار دهید و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱°C استریل کنید. سواب را زیر سطح آب رودخانه، دریاچه، خورها یا تنگه‌های دریایی به مدت ۳-۱ روز قرار دهید (مدت زمان طولانی‌تر تماس سواب موجب افزایش ورود پاتوژنها خواهد شد)

در طول مدت نمونه‌گیری، ذرات و میکروارگانیسم‌ها به هنگام عبور آب در سواب تجمع می‌کنند و تغلیظ می‌شوند بعد از این عمل سوابها را در یک جعبه پلاستیکی استریل در کنار یخ قرار دهید و به آزمایشگاه انتقال دهید. حداکثر زمان مجاز انتقال ۶ ساعت است. زمانیکه سواب در محفظه در مجاورت یخ قرار دارد قبل از اینکه سواب را به همراه محیط مغذی در حرارت ۴۱°C-۴۰°C انکوباسیون کنید ابتدا محفظه را در آبی با درجه حرارت ۴۴/۵°C به مدت ۵ دقیقه قرار دهید و سپس انکوباسیون کنید.

روش آنالیز پس از تغلیظ نمونه:

– غنی‌سازی: روش غنی‌سازی که معمولاً برای تشخیص ویبریوکلا در آب و غذا استفاده می‌شود عبارت است از یک محیط مغذی اختصاصی که به منظور کاهش میکروارگانیسم‌های مزاحم (رقیب) در نمونه انتخاب می‌شود و عموماً برای این منظور آب پپتونه قلیائی (pH=۹ یا $pH=8/6 \pm 0/2$) بکار می‌رود. غلظتهائی از نمونه را به آب پپتونه قلیائی افزوده و برای ۶ تا ۱۸ ساعت انکوباسیون می‌نمائیم.

— محیط کشت انتخابی: برای جداسازی اولیه ویبریوکلا از TCBS آگار (تیوسولفات، سیترات - بایل سالتز (نمک صفاوی) ساکارز آگار) استفاده می‌شود که به مدت ۲۴ ساعت در 35°C انکوباسیون می‌نمائیم. کلنی‌های مشکوک ویبریو با رنگ زردی که روی محیط TCBS ایجاد می‌شود قابل تشخیص است.

— پس از انجام مرحله فوق آزمونهای تأییدی شامل واکنشهای بیوشیمیایی و تستهای سرولوژیکی برای تشخیص ویبریوکلا الزامی است. (۱۷ و ۱۸)

روش استاندارد جستجو و تشخیص ویبریوکلا در آب بطور مشروح در استاندارد ۷۲۲۳ در ضمیمه ۲ آمده است.

۱۰- عملیات کنترلی به هنگام بروز و شیوع بیماری وبا

در مواقعی که در یک محل مورد یا موردهائی از بیماری وبا توسط دست‌اندرکاران امور درمانی تشخیص داده شود، باید مورد سریعاً بصورت سلسله مراتب به مراجع ذیصلاح درمانی و بهداشتی گزارش و اقدامات لازم در جهت شناسائی و پیش‌گیری بیماری انجام شود. فعالیت‌های زیر در این جهت ضرورت دارد:

- تشکیل ستاد وبا

— تشکیل جلسات اضطراری، شورای بهداشت استان، شهرستان، بخش و یا روستا با حضور ارگانهای ذیربط مانند شرکت آب و فاضلاب و مقامات محلی.

— هماهنگی با ارگانهای ذیربط در خصوص آموزش، نصب پلاکاردها، تابلوهای هشدار دهنده و...

— نظارت مستمر بر فعالیت پرسنل درگیر، تهیه تجهیزات و اقلام مورد نیاز مصرفی مانند پرکلرین و مواد گندزدای دیگر، رفع کمبودها

- انعکاس فعالیت‌ها به مقامات بالاتر و کسب راهنمایی و توصیه‌های

لازم برای بهبود عملیات اجرائی و نظارتی

— گزارش همه‌گیری و تکمیل فرم گزارش فوری وضعیت بهداشت محیط و گزارش اقدامات انجام شده و ارسال به مرکز سلامت محیط و کار وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی در اسرع وقت.

— تشدید فعالیت‌های کنترل کیفی آب در شهر و روستا شامل بازرسی منابع و تأسیسات تأمین و توزیع آب، نحوه گندزدائی آب، سنجش کلر باقیمانده آب، نمونه‌برداری‌های متعدد جهت آزمایشهای میکروبی، آزمایشهای میکروبی شامل جستجوی میکروارگانیسم‌های

شاخص آلودگی آب (بویژه کلیفرم‌ها و کلیفرهای گرم‌پای، استرپتوکوکهای مدفوعی، کلستریدیوم پرفرنژانس) و جستجوی ویبریوکلا در آب و آموزش به مردم جهت همکاری و اقدامات لازم

– در صورت آلودگی آب به فاضلاب و یا وجود ویبریوکلا در آب، سریعاً باید مصرف آب ممنوع گردد و تا رفع آلودگی و سالم شدن کامل آب، یک منبع آب آشامیدنی سالم و مطمئن جایگزین گردد.

_ ارزیابی فعالیت‌های انجام شده و بازنگری در فعالیت‌ها با توجه به نتایج ارزیابی .

– مستند سازی فعالیت های انجام شده.

ضمیمه ۱
روش آزمون ویبریوکلا
در آب آشامیدنی

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

کمیسیون استاندارد آب - جستجو و شناسایی ویبریوکلا

روش آزمون میکروبیولوژی

رئیس	سمت یا نمایندگی
مهوش، اسکوئی (دکترای میکروب شناسی)	انسیتو پاستور ایران
اعضاء	
اصلانی، محمد مهدی (دکترای میکروبیشناسی)	انسیتو پاستور ایران
زندوکیلی، فاطمه (فوق لیسانس علوم بهداشتی در تغذیه)	موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
سرگزی، مریم (لیسانس میکروب شناسی)	شرکت آبهای شهرها و شرکتهای استان تهران
شقاقی، غلامرضا (فوق لیسانس بهداشت محیط و حرفه ای)	وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی - اداره سلامت
صدیقی، هما (لیسانس بیولوژی)	شرکت آب و فاضلاب استان تهران
ضرغامپور، زهره (فوق لیسانس میکروب شناسی)	شرکت آب و فاضلاب استان تهران
عابدی، زهرا (فوق لیسانس میکروب شناسی)	انسیتو پاستور ایران
غلامی، میترا (دکترای بهداشت محیط)	دانشگاه علوم پزشکی ایران
دبیر	
زرسازی، گیتا (لیسانس صنایع - استاندارد و کنترل کیفیت)	موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

پیشگفتار

آب - جستجو و شناسایی ویبریوکلا - روش آزمون میکروبیولوژی که توسط کمیسیون‌های فنی مربوطه تهیه و تدوین شده و در پنجاه و سومین جلسه کمیته ملی استاندارد میکروبیولوژی مورخ ۸۲/۱۲/۱۷ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند ۱ ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفتهای ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدیدنظر خواهد شد و هرگونه پیشنهادی که برای اصلاح یا تکمیل این استانداردها ارائه شود، در هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی، مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین برای مراجعه به استانداردهای ایران باید همواره از آخرین تجدیدنظر آنها استفاده کرد.

در تهیه و تدوین این استاندارد سعی شده است که ضمن توجه به شرایط موجود و نیازهای جامعه، در حد امکان بین این استاندارد و استاندارد ملی کشورهای صنعتی و پیشرفته هماهنگی ایجاد شود.

منبع و مأخذی که برای تهیه این استاندارد بکار رفته به شرح زیر است:

W.E.F. A.W.W.A A.P.H.A Standard methods for the examination of water and waste water. 1998 water-Detection and identification of vibrio cholera.

مقدمه

ویبریوکلرا^۱ گروهی از میکروارگانیسم‌های میله‌ای شکل، خمیده، گرم منفی، بدون اسپور و متحرک هستند که تا کنون بیش از ۸۰ گروه سرولوژیکی آن شناخته شده است و به دو گروه عمده ویبریوکلرا^۲ و ویبریوکلرا غیر^۳ 01 طبقه‌بندی می‌شوند.

ویبریوکلرا 01 دارای دو زیر گروه^۴ التور^۵ و کلاسیک^۶ می‌باشد که نوع التور آن عامل بیماری وبا بوده و با آنتی‌سرم‌های اینابا^۷، اگوا^۸ و هیکوچیمای^۹ سروتایپ^{۱۰} می‌شوند برخی از سویه‌های ویبریوکلرا 01 آنتروتوکسین^{۱۱} ایجاد نموده که با حمله به سلولهای پوششی روده موجب دفع شدید آب و کاهش الکترولیت‌های بدن می‌شود و چنانچه جایگزین‌سازی مایعات و الکترولیت‌ها در بدن به سرعت انجام نپذیرد، خطر مرگ همراه دارد.

یکی از مهمترین راههای انتقال بیماری وبا به انسان، آب آلوده به آن می‌باشد که با توجه به اهمیت این میکروارگانیسم در سلامت جامعه،

^۱ - Vibrio cholera

^۲ - Vibrio Cholera-01

^۳ - Vibrio Cholera-Non 01

^۴ - Biotype

^۵ - Eltor

^۶ - Clasical

^۷ - Inaba

^۸ - Ogawa

^۹ - Hikojima

^{۱۰} - Serotype

^{۱۱} - Enterotoxin

تدوین روشهای آزمون استاندارد و کنترل آن بویژه در تصفیه خانه‌ها ضرورت دارد.

آب - جستجو و شناسایی ویبریوکلا - روش آزمون میکروبیولوژی

۱- هدف

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین روش جستجو و شناسایی ویبریوکلا در آب می‌باشد.

۲- دامنه کاربرد

این استاندارد برای انواع مختلف آب مانند آب آشامیدنی، آب سطحی، آب شور و شیرین، آبهای زیرزمینی و آب شناگاهها کاربرد دارد.

۳- مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد به آنها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد محسوب می‌شود. در مورد مراجع دارای تاریخ چاپ و/یا تجدیدنظر، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی این مدارک مورد نظر نیست. معه‌ذا بهتر است کاربران ذینفع این استاندارد، امکان کاربرد آخرین اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای مدارک الزامی زیر را مورد بررسی قرار دهند. در مورد مراجع بدون تاریخ چاپ و/یا تجدیدنظر، آخرین چاپ و/یا تجدیدنظر آن مدارک الزامی ارجاع داده شده مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۳-۱ استاندارد ملی ایران ۴۲۰۸: سال ۱۳۷۶ آئین کار نمونه‌برداری

از آب جهت آزمونهای باکتریولوژیکی

۲-۳ استاندارد ملی ایران ۴۲۰۷: سال ۱۳۷۶ آئین کار آزمایشگاه
باکتریولوژیکی آب

۳-۳ استاندارد ملی ایران ۲۷۴۷: سال ۱۳۸۰ آئین کار در آزمایشگاه
میکروبیولوژی

۴- اساس روش

این روش براساس تغلیظ نمونه‌های آب با استفاده از صافی غشایی،
غنی سازی نمونه، کشت بر روی محیط انتخاب و آزمایش‌های تأییدی آن
می‌باشد.

۵- نمونه برداری

دست کم ۳ تا ۵ لیتر آب را طبق استاندارد ملی ۴۲۰۸ سال ۱۳۷۶
آئین کار نمونه برداری از آب جهت آزمایش‌های باکتریولوژی
نمونه برداری کنید.

۶- مواد لازم

۱-۶ محیط‌های کشت، معروف‌ها و رقیق کننده‌ها

۱-۱-۶ محیط کشت تیوسولفات - سیترات - نمک صفراوی - ساکارز

آگار^۱ (TCBS)

ترکیبات	مقدار
پپتون	۱۰ گرم
عصاره مخمر	۵ گرم
تیوسولفات سدیم	۱۰ گرم
سیترات سدیم	۱۰ گرم

^۱ - Thiosulfate-Citrate-Bile salt-Sucrose Agar (TCBS).

۸ گرم	پودر صفراوی گاوی
۲۰ گرم	ساکارز
۱۰ گرم	سدیم کلراید
۱ گرم	سیترات آهن (۳ ظرفیتی)
۰/۰۴ گرم	بروموتیمول آبی
۱۴ گرم	آگار
۱۰۰۰ میلی لیتر	آب مقطر

طرز تهیه:

ترکیبات فوق را با جوشاندن در آب مقطر حل کنید. PH نهایی محیط باید برابر $8/8 \pm 0/1$ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس باشد سپس در پلیت‌های سترون تقسیم نموده، پس از خشک نمودن رطوبت اضافی پلیت‌ها، در دمای ۴ درجه سلسیوس به صورت وارونه نگه‌داری کنید. این محیط باید به رنگ آبی متمایل به سبز شفاف باشد.

یادآوری:

محیط کشت تیوسولفات - سیترات - نمک صفراوی - ساکارز آگار را نباید اتوکلاو کنید.

۶-۱-۲ آب پپتونه نمکدار قلیایی^۱

مقدار	ترکیبات
۳ گرم	عصاره مخمر
۱۰ گرم	پپتون
۱۰ گرم	سدیم کلراید

^۱ - Alkaline Salted Peptone water

۱۰۰۰ میلی لیتر

آب مقطر

طرز تهیه:

ترکیبات فوق را با جوشاندن در آب مقطر حل کنید. PH نهایی محیط باید برابر $8/6 \pm 0/2$ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس باشد. سپس در ظروف با گنجایش ۲۵۰ میلی لیتری، تقسیم نموده و در اتوکلاو با دمای 121 ± 1 درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سترون کنید.

۳-۱-۶ تریپتیک سوی آگار نمکدار^۱

مقدار	ترکیبات
۱۵ گرم	تریپتون
۵ گرم	پپتون
۱۰ گرم	سدیم کلراید
۱۵ گرم	آگار
۱۰۰۰ میلی لیتر	آب مقطر

طرز تهیه:

ترکیبات فوق را با جوشاندن در آب مقطر حل کنید. پس از تقسیم در لوله‌های مناسب کشت، در اتوکلاو با دمای 121 ± 1 درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سترون نمائید. سپس بر روی سطح شیبدار قرار دهید تا جامد شوند PH نهایی محیط پس از سترون شدن باید برابر $7/3 \pm 0/2$ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس باشد.

^۱ - Tryptic Soy Salted Agar.

۴-۱-۶ محیط کشت آزمون حرکت^۱

ترکیبات	مقدار
پودر عصاره گوشت	۳ گرم
پپتون	۱۰ گرم
کلرید سدیم	۵ گرم
آگار	۴ گرم
آب مقطر	۱۰۰۰ میلی لیتر

طرز تهیه:

ترکیبات فوق را با جوشاندن در آب مقطر حل کنید. سپس در لوله‌های مناسب کشت به حجم‌های ۸ میلی لیتری تقسیم نموده و در اتوکلاو با دمای 121 ± 1 درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سترون کنید. PH محیط پس از سترون شدن باید برابر $7/4 \pm 0/1$ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس باشد.

۴-۱-۵ معرف کواکس^۲

ترکیبات	مقدار
پارادی متیل آمینوبنز آلدئید	۵ گرم
اسید هیدروکلریدریک	۲۵ میلی لیتر
آمیل الکل	۷۵ میلی لیتر

طرز تهیه:

^۱ - Motility test.

^۲ - Kovacs reagent.

بنز آلدئید را در آمیل الکل حل نموده، سپس اسید را با احتیاط به آن اضافه کنید. این محلول باید در دمای ۴ درجه سلسیوس و دور از نور نگهداری شود.

۶-۱-۶ معرف اکسیداز^۱

ترکیب	مقدار
تترامتیل پارافنیل دی آمین - هیدروکلراید	۰/۱ گرم
آب مقطر	۱۰ میلی لیتر

طرز تهیه:

ترکیب فوق را در آب مقطر حل کنید. محلول بدست آمده را می‌توانید تا یک هفته در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری نمائید.

۶-۱-۷ آبگوشت تریپتون - تریپتوفان^۲

ترکیبات	مقدار
تریپتون	۱۰ گرم
کلرید سدیم	۵ گرم
تریپتوفان	۱ گرم
آب مقطر	۱۰۰۰ میلی لیتر

طرز تهیه:

ترکیبات فوق را با جوشاندن در آب مقطر حل کنید. سپس در لوله‌های مناسب کشت به حجم‌های ۵ میلی لیتری تقسیم نموده و در اتوکلاو با دمای

^۱ - Oxidase reagent.

^۲ - Tryptone-Tryptophane broth.

۱ ± ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سترون کنید. PH محیط باید پس از سترون شدن برابر ۰/۱ ± ۷/۵ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس باشد.

یادآوری:

چنانچه محیط‌های کشت مورد استفاده به صورت تجارتي در دسترس باشد، طبق دستورالعمل سازنده انجام دهید.

۷ وسایل لازم

از وسایل معمول در آزمایشگاه میکروب شناسی طبق استاندارد ملی ۲۷۴۷ سال ۱۳۸۰ آئین کار در آزمایشگاه میکروبیولوژی استفاده کنید.

۸- روش اجرای آزمون

۱-۸ تغلیظ به روش صافی غشایی

۳ تا ۵ لیتر نمونه بند ۵ آب را توسط صافی غشایی با اندازه روزنه ۰/۴۵ میکرون طبق استاندارد ملی ۴۲۰۷ صاف کنید.

۲-۸ غنی‌سازی نمونه

صافی غشایی بند ۸-۱ را با رعایت شرایط سترونی، در محیط آب پپتونه نمکدار قلیایی بند ۶-۱-۲، غوطه‌ور کنید، سپس در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۶ تا ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری نمائید.

۳-۸ کشت بر روی محیط انتخابی

با استفاده از حلقه کشت سترون، از محیط کشت بند ۲-۸ برداشت نموده و بر روی محیط کشت تیوسولفات - سیترات - نمک صفراوی - ساکارز - آگار بند ۶-۱-۱ به صورت خطی کشت دهید. سپس پلیت‌ها را در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری نمائید.

۴-۸ بررسی پلیت‌ها

پس از پایان مدت گرمخانه‌گذاری، پلیت‌ها را بررسی کنید. ایجاد کلنی‌های زرد رنگ نشانگر تخمیر سازوکار و وجود ویبریوکرای فرضی می‌باشد که برای تأیید آن باید آزمون‌های تأییدی انجام شود.

۵-۸ آزمون‌های تأییدی

۵-۸-۱ جهت آزمون‌های تأییدی لازم است ابتدا کشت جوان (تازه) تهیه نمائید. برای این منظور پنج کلنی زرد رنگ از بند ۸-۴ انتخاب کنید. اندازه کلنی‌ها بهتر است بین یک تا سه میلی‌متر باشد. سپس توسط حلقه کشت سترون بر روی محیط کشت غیرانتخابی مانند تریپتیک سوی آگار نمک‌دار بند ۶-۱-۳ بصورت خطی کشت دهید. پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، آزمون‌های تأییدی را انجام دهید.

۵-۸-۱ آزمون حرکت

توسط حلقه کشت سترون از کلنی بند ۸-۵-۱ برداشت نموده و بصورت مستقیم تا عمق ۵ میلی‌متری آگار محیط کشت آزمون حرکت بند ۶-۱-۴ وارد کنید. سپس در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری نمائید. پس از پایان این مدت، چنانچه واکنش مثبت باشد علائم رشد را در اطراف سوزن کشت می‌توانید مشاهده کنید.

آزمون حرکت ویبریوکرا 01 مثبت است.

یادآوری:

چنانچه در مدت فوق رشدی مشاهده نگردید، گرمخانه‌گذاری را تا پنج روز دیگر در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سلسیوس ادامه دهید.

۱-۵۸-۲ آزمون ایندول^۱

توسط حلقه کشت سترون از کلنی بند ۱-۵-۸ برداشت نموده و بصورت مستقیم تا عمق ۵ میلی متری آگار محیط کشت آزمون حرکت بند ۶-۱-۴ وارد کنید. سپس در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به لوله حاوی آبگوشت تریپتون - تریپتوفان بند ۶-۱-۷ تلقیح کنید. سپس لوله‌ها را در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری نمائید.

پس از پایان مدت گرمخانه گذاری، به لوله‌های فوق مقدار ۰/۲ تا ۰/۳ میلی لیتر از معرف کواکس بند ۶-۱-۵ افزوده و مخلوط کنید. تشکیل حلقه قرمز رنگ نشان دهنده واکنش مثبت می باشد.

آزمون ایندول و بیروکلرا 01 مثبت است.

۱-۵۸-۳ آزمون اکسیداز

۲ تا ۳ قطره معرف اکسیداز بند ۶-۱-۶ بر روی کاغذ صافی بریزید. سپس توسط حلقه کشت سترون از کلنی بند ۱-۵-۸ برداشت نموده و به کاغذ آغشته به معرف اکسیداز اضافه کنید. ظهور رنگ ارغوانی مایل به آبی تیره در مدت ۱۰ ثانیه را، به عنوان واکنش مثبت در نظر بگیرید.

آزمون اکسیداز و بیروکلرا 01 مثبت است.

۱-۵۸-۳ آزمون اکسیداز

۲ تا ۳ قطره معرف اکسیداز بند ۶-۱-۶ بر روی کاغذ صافی بریزید. سپس توسط حلقه کشت سترون از کلنی بند ۱-۵-۸ برداشت نموده و به کاغذ آغشته به معرف اکسیداز اضافه کنید. ظهور رنگ ارغوانی مایل به آبی تیره در مدت ۱۰ ثانیه را، به عنوان واکنش مثبت در نظر بگیرید.

^۱ - indol Test.

آزمون اکسیداز و بی‌راکرا 01 مثبت است.

۸-۱-۴ آزمون میکروسکوپی

توسط حلقه کشت از کلنی بند ۸-۵-۱ برداشت نموده و بر روی یک لام تمیز گستره تهیه کنید. پس از ثابت نمودن لام، به روش گرم^۱ رنگ آمیزی نموده و توسط میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر و استفاده از روغن سدر بررسی کنید.

ویبریوکرا 01 با سیل‌های گرم منفی خمیده شکل هستند.

یادآوری:

توصیه می‌شود برای شناسایی زیرگروه‌های ویبریوکرا 01 از روش‌های سرولوژیکی معتبر استفاده کنید.

۹ بیان نتایج

با توجه به آزمون‌های تأییدی (طبق بند ۸-۵) این استاندارد نتایج را به صورت «ویبریوکرا 01 در ۳ تا ۵ میلی‌لیتر نمونه آب مشاهده گردید» و یا «ویبریوکرا 01 در ۳ تا ۵ میلی‌لیتر نمونه آب مشاهده نگردید» بیان کنید.

۱۰ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید دارای آگاهی‌های زیر باشد:

۱-۱۰ مشخصات کامل نمونه مانند نوع نمونه، تاریخ و محل

نمونه‌برداری، تاریخ ارسال نمونه به آزمایشگاه

۲-۱۰ روش آزمون طبق استاندارد ملی...

۳-۱۰ بیان نتایج طبق بند ۹ این استاندارد

۴-۱۰ سایر اطلاعات که مرتبط با روش آزمون باشد.

^۱ - Gram.

ضمیمه ۲

کیفیت باکتریولوژیکی آب آشامیدنی (WHO) (۸)

مقدار رهنمودی	موجودات زنده
	کلیه آب‌هایی که به مصرف آشامیدن می‌رسند.
نبایستی در هیچ یک از نمونه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتر یافت شوند.	باکتری‌های E.coli یا کلیفرم‌های مقاوم در برابر حرارت ب و ج آب تصفیه شده‌ای که وارد سیستم توزیع می‌شود:
نبایستی در هیچ یک از نمونه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری یافت شوند.	باکتری‌های E.coli با کلیفرم‌های مقاوم در برابر حرارت ب
نبایستی در هیچ یک از نمونه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری یافت شوند.	کل باکتری‌های کلیفرم
	آب تصفیه شده در سیستم توزیع:
نبایستی در هیچ یک از نمونه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری یافت شوند.	باکتری‌های E.coli با کلیفرم‌های مقاوم به حرارت ب
نبایستی در هیچ یک از نمونه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری یافت شوند. در مورد سیستم‌های تأمین آب بزرگ که نمونه‌های کافی مورد آزمایش قرار می‌گیرند نبایستی در ۹۵٪ از نمونه‌های گرفته شده در کل ۱۲ ماه سال دیده شوند.	کل باکتری‌های کلیفرم

الف. در صورتی که E.coli یا کل باکتری‌های کلیفرم تشخیص داده شوند، می‌بایست اقدام تشخیصی سریع انجام گیرد. حداقل اقدامی که می‌توان در هنگام وجود کل باکتری‌های کلیفرم انجام داد، تکرار نمونه‌برداری است. اگر این باکتری‌ها در نمونه تکرار شده یافت شوند، علت آن می‌بایست به وسیله بررسی بیشتر و سریع تعیین شود.

ب. اگر چه E.coli دقیق‌ترین شاخص آلودگی مدفوعی است، شمارش باکتری‌های کلیفرم مقاوم به حرارت می‌تواند یک گزینه قابل قبول باشد. در صورت نیاز آزمایش‌های تأییدی مناسب می‌بایست انجام شود. کل باکتری‌های کلیفرم شاخص قابل قبولی برای کیفیت بهداشتی منابع آب روستایی نیست، به ویژه در مناطق گرمسیر که باکتری‌های بسیاری که فاقد اهمیت بهداشتی می‌باشند در اغلب منابع آب تصفیه نشده وجود دارند.

ج. تشخیص داده شده است که در اکثر منابع آب روستایی در کشورهای درحال توسعه، آلودگی مدفوعی شایع است. در چنین شرایطی، می‌بایست برای بهسازی منابع تأمین آب، بر اساس توصیه‌های ارائه شده در این راهنما اقدام شود.

منابع

- ۱- حاتمی. حسین و همکاران «کتاب جامع بهداشت عمومی»، جلد اول، انتشارات ارجمند، تهران، ۱۳۸۳.
- 2- Baumann P, Furniss AL, Lee JV (1984). Genus1, vibrio. In: krieg PNR, Halt JG, eds. Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol.1. Baltimore, Williams & Wilkins.
- 3- World Health Organization (2004) Guidelines for drinking-water quality, Volume 1, Recommendation. WHO. Geneva.
- ۴- حاتمی، حسین و همکاران «اپیدمیولوژی و کنترل بیماریهای شایع در ایران» انتشارات خسروی تهران - چاپ اول، ۱۳۸۳
- ۵- زعیم کهن. حمید، (مترجم) اصول طب داخلی هاریسون، بیماریهای عفونی انتشارات سمارنگ - چاپ اول ۱۳۸۰
- 6- Reuter, C.G. "Brighter Light better water, Environ, Health Perspect. 104: 1046-1048.
- 7- Bitton, G. "Wastewater Microbiology seconded., John wiley & sons.In. pub, (1999).
- ۸- نبی‌زاده. رامین، فائزی. دادمهرازی (مترجمین)، رهنمودهای کیفیت آب آشامیدنی، جلد اول، توصیه‌ها،... سازمان بهداشت جهانی، موسسه علمی فرهنگی هنر، تهران، ۱۳۷۵
- 9- Salvato.J. " Environmental engineering" Fifth edition , John wiley & Sons , Inc. 2003.
- 10- Boutin. B.K, Bradshaw. J. G, stroup. W.H, "Heat processing of oysters naturally contaminated with vibrio-cholerae serotype 01" J. food protection 42(12) 169-171 (february 1982)
- 11- وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، اقدامات بهداشتی ، در بیماریهای واگیر

- ۱۲- ندافی، ک، یزدانبخش.ا.ر، (ترجمه)، «کنترل کیفی آب آشامیدنی در اجتماعات کوچک»، انتشارات سازمان بهداشت جهانی، جهاد دانشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۶۹
- ۱۳--Lange. K.P, et al, "Diatomaceous earth filtration of Giardia cysts and other substances. J. Am. Water works Assoc. 78: 76-82. (1986).
- 14-Blaser, M.J, et al "Inactivation of complyobacter by chlorine and monochloramine, Appl. Environ, Microbiol. 51: 307-311. 1986
- ۱۵-واعظی.ف، صید محمدی.ع، «مقررات گندزدائی آب و بهره‌برداری از گندزداها»، انتشارات سه استاد، تهران، ۱۳۸۲
- ۱۶-APHA, AWWA, WEF "Standard Methods for the examination of water & wastewater" USA, 1998
- 17-WHO, CDS. "Laboratory Methods for the Diagnosis of epidemic Dysentery and cholera, (1999)
- 18-APHA, AWWA, WPCF "Standard Methods for the examination of water & wastewater, USA. 1980.
- 19- WHO, "Climate change and human health" Geneva 2003.
- ۲۰- حاتمی حسین و همکاران " کتاب جامع بهداشت عمومی " جلد دوم، انتشارات ارجمند ، تهران ، ۱۳۸۳.
- 21- WHO, "El nino and its health impacts : Weekly epidemiological record, No. 20, 15 May 1998.