

# ویبریو پاراهمولایتیکوس در فاضلاب شهر کرمانشاه

علی الماسی \* محمد سلطانیان \* فیض‌الله منصوری \* محمد تقی عیوضی \* پرویز مهاجری \*\* حبیبه مسکینی \*\*\*

(دريافت ۸۳/۲/۳۰) پذيرش ۸۳/۸/۲

## چکیده

فاضلاب خانگی يكی از مهم‌ترین منابع آلاینده محیط به ویژه منابع آب، سبزیجات و مواد غذایی می‌باشد. تعیین توزیع عوامل بیماری‌زای خاص می‌تواند به برنامه‌ریزی در جهت کنترل و پیش‌گیری از بیماری‌های عفونی نظیر اسهال، استفراغ، وبا و بیماری‌های مشابه آن کمک نماید. این تحقیق با هدف تعیین توزیع ویبریوهای بیماری‌زای شناخته شده با تأکید بر شناسایی ویبریو کلرا در فاضلاب شهر کرمانشاه در سال ۱۳۷۹ صورت گرفته است. جمعیت تحت پوشش، ۷۱۳۰۰۰ نفر برآورد شده است. با توجه به مصرف سرانه ۱۸۰ لیتری آب شرب، فاضلاب سرانه حدود ۱۵۰ لیتر در روز برآورد شده است.

مطالعه به روش توصیفی- مقطوعی صورت گرفت. ابتدا تعداد ۸ نمونه بر روی مجاری انتقال فاضلاب شهر کرمانشاه به عنوان ایستگاه‌های نمونه‌برداری انتخاب شد، سپس به طور تصادفی در ساعات مختلف شباهه روز هفت‌های یک نمونه از هر ایستگاه برداشت شد. در مجموع ۳۳۹ نمونه برداشت شد و نمونه‌های جمع آوری شده طبق روش‌های استاندارد مورد آزمایش قرار گرفتند.

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد نمونه‌های برداشت شده از ایستگاه ۷ با پنج نمونه مثبت، ایستگاه‌های ۴ و ۸ هر کدام با سه نمونه مثبت، ایستگاه ۵ با دو نمونه مثبت و ایستگاه‌های ۲، ۳ و ۶ هر کدام با یک نمونه مثبت حاوی ویبریوهای بیماری‌زا هستند و در ایستگاه ۱ هیچ‌گونه نمونه مثبتی مشاهده نگردید. بیشترین تعداد نمونه مثبت از نظر توزیع زمانی در فصل بهار، اوخر فصل تابستان و اوایل پاییز (ماه‌های اردیبهشت، خرداد، شهریور و مهر) مشاهده گردید. با توجه به فرایند تشخیص ویبریوها از طریق انجام تست‌های افتراکی، محتمل‌ترین ویبریوی تشخیص داده شده در این مطالعه، ویبریو پاراهمولایتیکوس می‌باشد. وجود ویبریوی کلرا و التور در این فاضلاب‌ها تأیید نشد.

به نظر می‌رسد حضور ویبریو همولایتیکوس در فاضلاب برخی از مناطق شهر مرتبط با امکن توزیع غذایی دریایی نظیر ماهی و میگو باشد، لذا پیشنهاد می‌شود طی مطالعه‌ای احتمال وجود ویبریوها در مواد غذایی مورد اشاره که در مناطق مختلف شهر توزیع می‌شود، تحت بررسی قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** ویبریو پاراهمولایتیکوس، فاضلاب، کرمانشاه

## Vibrio Parahemolyticus in the Wastewater of Kermanshah City

**Almasi, A. (Ph.D), Soltanian, M. (Ph.D), Mansoori, F. (Ph.D), Aivazy, M.T. (Ph.D),  
Mohajeri, P. (M.Sc) and Meskini, H. (B.Sc) Kermanshah University of Medical Sciences**

### Abstract

Municipal wastewater is one of the most important pollution sources for water supply resources. Soil, vegetable, and food material are exposed as well. Identification and enumeration of pathogenic agents particularly pathogenic Vibrios are beneficial for control and prevention planning of the infectious diseases. This research carried out to identify the distribution of the recognized pathogenic Vibrios emphasizing on identification of Vibrio cholerae in the wastewater of city of Kermanshah in 2001. Population of city of Kermanshah was estimated over 713000 and produced wastewater was approximately 150 l/cap/d. The method of study was cross-sectional descriptive. Sampling procedure was adopted from standard Methods for the Examination of water ar

\* استادیار عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

\*\* مریبی عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

\*\*\* کارشناس آموزشی

identification was according to finegold 1990. There were 8 discharge outlet domestic wastewaters, which had been chosen as sampling sites. Samples were collected weekly in randomized manner in day time. Although 288 samples should be collected statistically, 339 samples were collected and analyzed. The results indicated that site 7 with 5 positives, sites 4 and 8 with 3 positives, site 5 with 2 positives and sites 2, 3 and 6 with one positive suspected to vibrio pathogens. However, not any Vibrio detected in site 1. The most positive samples were seen in spring, late summer and early autumn. The positive results were detected in May, June, September, and October. Among samples which have been detected as a positive could be likely Vibrio Parahemolyticus according to the differentiation tests. Vibro chloral was not found. It looks like the presence off vibrio parahemolyticus was due to wastewater discharged from sea food markets areas. So it has been suggested that this relationship could be considered through analytical study using PCR for detection of Vibrios.

### کلارک س.ج و همکاران (۱۹۹۸). در تحقیق روی

همه‌گیری سال ۱۹۹۴-۱۹۹۵ که در اکراین انجام دادنده توانستند سی و هفت نوع سروتیپ‌های ویبریوکلرا و چهار نوع سروتیپ‌های غیر ویبریوکلرا را از طریق روش PCR به دست آورند. در اوج همه‌گیری، سوش‌های غیر توکسکوژنیک مرتبط با انواع ویبریوکلرا را نیز از رودخانه‌ها به دست آوردند؛ ویبریوپارا همولایتیکوس و ویبریو الجینولیتیکوس که ارتباطی با ویبریوکلرا نداشتند نیز شناسایی گردیدند [۶]. برخی گزارش‌ها، همه‌گیری‌های عفونت‌های پاراهمولايتیکوسی را همراه با خوردن صدف خام نشان می‌دهد [۷].

در مطالعه‌ای که بین سپتامبر ۱۹۸۳ تا نوامبر ۱۹۸۴ به مدت یک سال در جده عربستان سعودی انجام شد و با استفاده از ۲۳ نمونه از پساب فاضلاب تصفیه‌خانه جده مورد آزمایش میکروب شناختی قرار گرفت، ۳۹۵ گونه از باکتری‌های تخمیر کننده گرم منفی جدا شده و تعیین گونه شدند. ویبریوها شیگلاها و سالمونلاها مشخص نگردیدند [۱۰]. شاید یکی از دلایل عدم تشخیص آن‌ها عدم استفاده از محیط‌های غنی کننده باشد که در روش مطالعه صراحت دارد. فراوانی انواع ویبریوها در محیط به ویژه در آب‌های آلوده، پساب‌های انسانی و فاضلاب‌ها، وقوع اسهال‌های وبايي و شبه وبايي در سال‌های متوالی در استان کرمانشاه، محققان را بر آن داشت تا با طراحی و اجرای این تحقیق احتمال اندمیسیتی ناشی از این زیستوارک‌ها، به بررسی وجود انواع بیماری‌زای آن در فاضلاب‌های شهر کرمانشاه پردازنند. در این مطالعه علاوه بر تعیین و توزیع ویبریوها، توزیع مکانی و زمانی انواع ویبریوهای بیماری‌زا در این فاضلاب‌ها مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، تشخیص و تعیین توزیع میکروب‌های بیماری‌زا در فاضلاب‌های منتهی به منابع آب، قدمی اساسی در

### مقدمه

در فرهنگ پزشکی و بهداشت، کلمه ویبریو نام بیماری و با را تداعی می‌نماید [۱]. ویبریوها از باکتری‌های گرم منفی و خمیده شکلی اند که در آب‌های شور و شیرین، مدفوع انسان و حیوانات دیگر یافت می‌شوند و اکثر آن‌ها سaproوفیت می‌باشند [۲]. برخی از انواع آن‌ها در انسان و عده‌ای در ماهی‌ها تولید بیماری می‌کند. گروهی از این زیستوارک‌ها باعث اسهال خفیف (شیگلوئیدی) و گروهی نیز موجب اسهال و استفراغ خیلی شدید (وبا) می‌شوند [۳]. در سال‌های اخیر علاوه بر ویبریوکلرا، نقش انواع مختلف ویبریوها در ایجاد اسهال‌های وبايي و شبه وبايي معلوم شده است. ویبریوپاراهمولايتیکوس، ویبرولنیفیکوس، ویبریوفلاویالیس، ویبریوفرینسیس، ویبریودانسلا، ویبریو الجینولايتیکوس و ویبریومچینی گروهی از انواع ویبریوهای بیماری‌زای شناخته شده انسانی می‌باشند [۴].

منبع اصلی بیماری وبا و بیماری‌های مشابه آن آب‌های سطحی و راه سرایت شایع در همه‌گیری‌ها، آب آلوده و غذای آلوده است [۵]. از نظر ویژگی‌های همه‌گیری شناختی، اغلب در نقاط گرم و مرطوب پیدا می‌شود. در تمام فصول سال احتمال شیوع بیماری وجود دارد ولی از اردیبهشت تا آبان ماه میزان بروز آن در ایران بیشتر مشاهده شده است. ویبریوپاراهمولايتیکوس از جمله میکروارگانیسم‌های ویبریوشکل بیماری‌زایی است که علاوه بر ایجاد عفونت‌های روده‌ای، باعث عفونت‌های خارج روده‌ای نظیر عفونت گوش و غیره می‌شود. این باکتری به طور وسیعی در ساحل دریاها و مصب رودخانه‌ها به دست آمده و در سراسر جهان منتشر می‌شود و در فصل معتدل و گرم در آب‌های آلوده تکثیر می‌یابد [۳].

مستقیم نیز تحرک و صورت ظاهری باکتری‌های مولد کلنج مورد مطالعه میکروسکوپی قرار می‌گرفت.

انجام تست اکسیداز و کاتالاز: در صورت مشبت بودن این دو تست کار بعدی انتقال باکتری روی محیط‌های افتراقی حاوی قندهای گلوكز، ساکاروز و لاکتوز بود که از محیط Kiggler iron agar (KIA) و Triple sugare iron agar (TSI) استفاده شد. اگر بعد از ۲۴ الی ۴۸ ساعت تخمیر قندها در لوله آزمایش به صورت A/A و یا A/ALK/A در محیط TSI و ALK/A در محیط KIA مشخص می‌گردید، اقدام بعدی شناسایی سوش مجهول بود.

شناسایی سوش‌ها با استفاده از تست‌های افتراقی بیوشیمیایی نظیر: VP، لاکزین دکربوکسیلаз، تست ایندول و تست احیای نیترات به نیتریت و همچنین مشاهده همولیز روی محیط Blood agar (B.A) بود.

در صورت مشبت بودن همه موارد فوق، به عنوان آزمایش نهایی، از تست تحمل NaCl در غلاظت‌های مختلف استفاده می‌شد. در این تست باکتری به محیط حاوی کلرور سدیم ۰٪، ۳٪، ۶٪، ۸٪ و ۱۰٪ منتقل و در خاتمه جواب‌های به دست آمده با جدول افتراقی ویبریوها و یا انتروباکتریاسه‌ها شناسایی می‌شندند.

pH و دمای نمونه‌ها در محل نمونه‌برداری بر طبق روش‌های استاندارد آزمایش‌های آب و فاضلاب اندازه‌گیری شد [۱۱].

## یافته‌ها

مجموع نمونه‌های آزمایش شده ۳۳۹ نمونه می‌باشد که در ۱۶ نمونه و در ۷ ایستگاه نمونه‌برداری ویبریوهای بیماری‌زا تشخیص داده شد. ایستگاه شماره ۱ حاوی هیچ‌گونه ویبریوی بیماری‌زا نبود. شکل ۱ نتایج آزمایش‌های انجام شده بر روی فاضلاب‌های شهر کرمانشاه در ایستگاه‌های انتخابی را در طول مطالعه نشان می‌دهد. همچنین این شکل توزیع مکانی نمونه‌های مشبت ویبریوهای بیماری‌زا را نشان می‌دهد و توزیع زمانی آن‌ها در شکل‌های ۲ و ۳ ارائه شده است. ایستگاه شماره ۷ با ۵ نمونه مشبت (اردیبهشت ماه ۲ مورد، خرداد ۱ مورد و مهرماه ۲ مورد) بیشترین آلدگی را نشان می‌دهد.

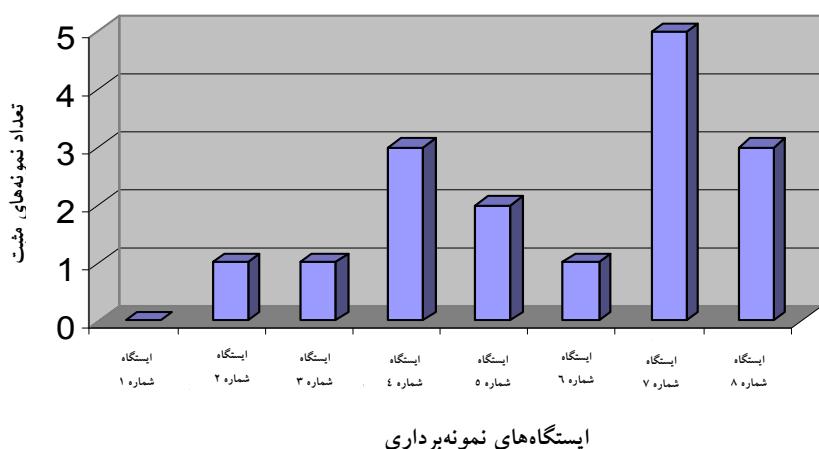
جهت ارتقای کیفیت بهسازی منابع آب و بهبود مدیریت کیفیت جامع این منابع می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

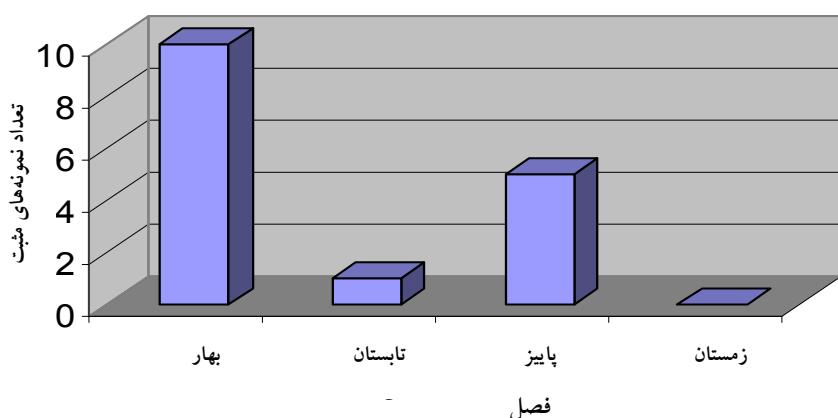
این پژوهش یک مطالعه توصیفی- مقطعی می‌باشد که به منظور دست‌یابی به توزیع ویبریوهای بیماری‌زا در فاضلاب‌های شهر کرمانشاه طراحی و انجام شده است. ابتدا از طرف گروه کارشناسی بر روی مجازی فاضلاب‌های شهر کرمانشاه که در انتهای به رودخانه قره سو منتهی می‌شوند، ۸ نقطه به عنوان ایستگاه‌های نمونه‌برداری تعیین گردید. سپس هفته‌ای یک بار نمونه‌برداری از هر ایستگاه به عمل آمد. نمونه‌ها به طور تصادفی و به روش استاندارد آزمایش‌های میکروبیولوژی آب و فاضلاب، در ساعات و روزهای مختلف در چهار روز اول هفته برداشت گردید [۱۱]. همراه با برداشت نمونه‌ها pH و درجه حرارت فاضلاب نیز اندازه‌گیری شد. تعداد نمونه‌های از پیش تعیین شده پیشنهادی، ۲۸۸ نمونه بود که با اندک تغییراتی در مراحل نمونه‌برداری، این تعداد به ۳۳۹ نمونه افزایش داده شد.

برای تشخیص ویبریوهای بیماری‌زا آزمایش‌ها براساس روش ارائه شده در کتاب میکروبیولوژی تشخیصی فاین گلد انجام شده است [۵]. در ابتدا برای غنی‌سازی نمونه‌ها حجم مشخصی (ده میلی‌لیتر) از نمونه فاضلاب خام را سانتریفوژ کرده، حدود ۱-۲ میلی‌لیتر رسوب حاصله را در لوله آزمایش حاوی ALK.PW با  $pH=8/5$  ریخته و پس از مخلوط کردن نمونه با محیط کشت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه نموده پس از این مدت از لوله‌های آزمایشی که در اثر رشد باکتری‌ها کدر می‌گردید، به وسیله لوب بر روی محیط TCBS کشت خطی داده می‌شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، در صورت تشکیل کلنجی بر روی محیط کشت مذکور، عملیات زیر برای تشخیص ویبریوها انجام می‌گرفت:

تهیه اسپیر و رنگ آمیزی گرم: در صورتی که باسیل گرم منفی بود، برای اطمینان از درستی کار به وسیله تست  $KOH$  ۳٪ منفی بودن باکتری رشد یافته تأیید می‌گردید و با مشاهده



شکل ۱- توزیع نمونه های مثبت بر حسب ایستگاه های نمونه برداری در طول مطالعه



شکل ۲- توزیع ویروسی زا در فاضلاب شهر کرمانشاه بر حسب فصل



شکل ۳- توزیع ویروسی زا در فاضلاب شهر کرمانشاه بر حسب ماه های سال

غنى کننده ضروری رشد ویبریوها استفاده نشده بود. در ایستگاه ۱ که مربوط به دولت آباد است، در طول زمان نمونه برداری، نمونه مشتبی مشاهده نشد. این فاضلاب ناشی از بخش های جنوب غربی نواحی نیمه صنعتی شهر می باشد. ماهیت نیمه صنعتی یا تجاری بودن این منطقه می تواند از دلایل عدم دست یابی به انواع ویبریوی بیماری زا در فاضلاب این محل باشد.

ایستگاه های ۲، ۳ و ۶ هر کدام یک مورد مثبت داشتند. ایستگاه ۲ فاضلاب های بخش غربی شهر، ایستگاه ۳ مربوط به فاضلاب های نواحی شمال غرب و ایستگاه ۷ مربوط به آبشوران است که دریافت کننده فاضلاب بخش های وسیعی از جنوب و مرکز شهر کرمانشاه است که دارای بیشترین موارد مثبت بود. حدود ۳۳/۳۳٪ موارد مثبت در فاضلاب این بخش از شهر مشاهده گردید. با توجه به تأیید وجود ویبریو پاراهمولا یتیکوس که از ویبریوهای بیماری زا می باشد، و بالا بودن نسبی تعداد موارد مثبت در این ایستگاه، لزوم پژوهشی متوجه کرمانشاه از خصوص ریشه یابی آن را طلب می کند. احتمال می رود مراکز تهیه و توزیع غذایی دریایی و یا منابع مرتبط دیگری در این منطقه وجود داشته باشد. ایستگاه شماره ۵ دارای دو نمونه مثبت بود. این ایستگاه فاضلاب های شمال شرقی شهر از جمله شهرک های شمال فروندگاه و بخش شرقی منطقه مسکونی را پوشش می دهد.

ایستگاه های ۴ و ۸ هر کدام با سه مورد مثبت رتبه دوم ویبریوی بیماری زا را داشتند. ایستگاه ۴ مربوط به بخش های شمال غرب شهر و ایستگاه شماره ۸ که مربوط به مناطق جنوب شرقی شهر کرمانشاه (صالح آباد، تپه فتحعلی خان، جعفر آباد، آریا شهر، غسالخانه، محدوده دانشکده کشاورزی و کیهان شهر) می باشد. احتمال وجود ویبریوی پارا همولا یتیکوس در آب های آلوده و پساب فاضلاب ها با مطالعه واتکینس و کابل توافق دارد [۸].

از نظر توزیع فصلی، نمونه های مثبت در فصل بهار و اوخر تابستان و اوایل پاییز به دست آمدند. این نتیجه با مطالعات انجام شده دیگر هم خوانی دارد [۷ و ۸]. حضور ویبریوی پاراهمولا یتیکوس در پساب فاضلاب تصفیه شده، با اکسیژن مورد نیاز تعزیزی بیوشیمیایی بالاتر از ۲ میلی گرم در لیتر و با دمای ۴ تا ۵۰ درجه سانتی گراد زندگانی ماند. لیکن طی شش روز به سرعت تعداد آنها نقصان پیدا می کند [۹]. در صورتی که مولر و همکارانش در مطالعه ای که بر روی پساب تصفیه خانه جده عربستان سعودی انجام دادند، هیچ نوع ویبریوی را گزارش ننموده اند [۱۰]. البته در این مطالعه از محیط های

ایستگاه های ۴ و ۸ هر کدام با ۳ نمونه مثبت و ایستگاه ۵ با ۲ نمونه مثبت به ترتیب رتبه دوم و سوم را حائز بودند. در ایستگاه های ۲، ۳ و ۶ میانگین pH نمونه ها ۰/۰۵ (حداقل ۰/۵ و حداکثر ۰/۶) بود. غالب نمونه های مثبت، pH برابر ۰/۷ و بالاتر را داشتند. متوسط دمای نمونه ها از محل نمونه برداری ۲۱/۶ (حداقل ۱۱ و حداکثر ۲۷) بود. نمونه های مثبت، دمای بالاتر از ۱۸ درجه سانتی گراد داشتند.

## بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده نشان می دهد از مجموع نمونه های گرفته شده، ۴/۷۲٪ حاوی ویبریوهای بیماری زا بودند. با توجه به تست های افتراقی هیچ کدام از انواع ویبریوهای کلرا و التور مشاهده نگردید، ولی نتایج تست های تشخیص افتراقی نمونه های مثبت بیشترین مطابقت را با ویبریو پاراهمولا یتیکوس نشان داد. در مطالعه انجام شده بر روی بستر ناراگان بی ار ای، تراکم جمعیت ویبریو پاراهمولا یتیکوس با سطح آلودگی مدفعی مرتبط بود. داده های به دست آمده در این مطالعه همراهی قابل توجه بین سطوح جمعیتی این میکروارگانیسم و اشریشیاکلی، کلستریدیوم پرفرنجنس و انتروكوکسی نشان داد. بیشترین تراکم جمعیتی ویبریو پاراهمولا یتیکوس در نزدیکی سطح آب مناطق آلوده یافت می شود و با افزایاد فاصله از منبع آلوده کننده یا محل تخلیه فاضلاب و افزایش عمق سطون آب سرعت جمعیت آنها نقصان پیدا می کند. نتایج این تحقیق تأثیر غیر مستقیم پساب فاضلاب را بر حضور و فور ویبریو پاراهمولا یتیکوس نشان می دهد. احتمالاً این وضعیت به واسطه تحریک زیستی و تغییر زنجیره غذایی نظیر، توسعه و رشد میکرووفونا باشد. زیرا این میکروارگانیسم در زنجیره غذایی خود احتیاج به مواد کیتینی دارد [۸]. ویبریو پاراهمولا یتیکوس در محیط آبی با اکسیژن مورد نیاز تجزیه بیوشیمیایی بالاتر از ۲ میلی گرم در لیتر و دمای ۴ تا ۵۰ درجه سانتی گراد زندگانی ماند. لیکن طی شش روز به سرعت تعداد آنها نقصان پیدا می کند [۹]. در صورتی که مولر و همکارانش در مطالعه ای که بر روی پساب تصفیه خانه جده عربستان سعودی انجام دادند، هیچ نوع ویبریوی را گزارش ننموده اند [۱۰]. البته در این مطالعه از محیط های

تقویت کننده از نظر پارامترهای دخیل در رشد و تکثیر ویبریوها منظور گردد.

نمونه‌های مثبت از نوع ویبریوی بیماری‌زا، طبق نتیجه تست افتراقی، مطابقت با جدول استاندارد، نظر کارشناسی و نظر صاحب نظران با ویبریوپارا همولا یتیکوس همخوانی دارد و ویبریوی نوع کلرا یا التور در این مطالعه تشخیص داده نشد.

پیشنهاد می‌شود چنین مطالعه‌ای بر روی فاضلاب‌ها در دیگر شهرستان‌ها و مناطق جغرافیایی مختلف صورت گیرد تا منابع آلودگی احتمالی تشخیص داده شود. هم‌چنین با استفاده از روش مطالعات پیشرفت‌هه میکروب شناختی نظری روش PCR و با استفاده از واکنش آنتی ژن، آنتی بادی گونه‌های موارد مثبت تعیین گردد.

#### قدرتانی

محققین لازم می‌دانند مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را از کمیته پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه در قبال اعطای فرصت لازم و تأمین بودجه مطالعه ابراز نمایند.

است. توزیع این میکروارگانیسم منتصب با دما و با مطالعه راجکاویسیکو ک.ت، و رایس ای. مطابقت دارد [۹]. از نظر ماه‌های سال، خرداد با ۶ مورد، ۳۷/۵٪ موارد مثبت، مهرماه با ۵ مورد، ۳۱/۲۵٪ موارد مثبت، اردیبهشت ماه با ۴ مورد، ۲۵٪ موارد مثبت و شهریورماه با ۱ مورد، ۶/۲۵٪ موارد مثبت وجود ویبریوها را به خود اختصاص داده‌اند. ویبریوها در دمای معتدل ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین اثر را از نظر همه‌گیر شناختی دارند. توزیع زمانی ویبریوها از نظر فصل و ماه‌های سال می‌تواند مرتبط با درجه حرارت باشد. می‌توان گفت، بروز و شیوع بیماری‌های گوارشی شیگلولئیدی و شبهویایی، با رد باسیل شیگلا و عدم احراز عامل وبا در ماه‌ها و فصول مزبور در کرمانشاه، بی ارتباط با چنین میکروارگانیسمی نیست

از نکات مورد توجه در این مطالعه همبستگی حضور یا بقای ویبریوها با pH محیط بود، به طوری که تمامی نمونه‌هایی که pH آن‌ها کمتر از ۵/۷ بود، منفی و تمامی نمونه‌های دارای pH بالاتر از ۸ مثبت بودند. اگرچه این موضوع از اهداف مطالعه نبوده اما می‌تواند به عنوان موردنی

#### منابع

- ۱- دستورالعمل‌های مبارزه با بیماری وبا، (آبان ماه ۱۳۷۸). وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی.
- ۲- آل محمد، م.م.. (۱۳۶۵). "میکروب‌شناسی عملی"، مرکز نشر دانشگاهی
- 3- Park, J.E., and Park, K., (1995). "Text book of Preventive and Social Medicine" Thirteenth Edition.
- 4- Chakraborty, S., Nair, G.B., and Shinod, S. (1997). "Pathogenic Vibrio in the Natural Aquatic Environment". Rev. Environ. Health. Jour., vol. 2, No. 12, pp: 63-80.
- 5- Ellen, G., and Sydney Finegold, (1990). "Diagnostic Microbiology", G.V. Olby Company
- 6- Clark, C.G., Kravet, A.N., Dendy, C., Wang, G, Tyler, K.D., Johnson, W.M., (1998). "Investigation of the 1994-5 Ukrainian Vibro Cholerae Epidemic. Usining Molecular Methods", Epidemiol-Infect, vol. 121, No. 1, p: 15-29.
- 7- Morb, M., WKLY. Rep (1998). "Outbreak of Vibrio Parahaemolyticus Infction Associated with Eating raw oysters", vol. 12-47, No. 22, pp:425-426.
- 8- Watkins, W.D., and Kabelli, V.J., (1985). "Effect of Faecal Pollution on Vibrio Parahaemolyticus Densities in an Estuarine Environment", Appl. Microbiol., vol. 49, No. 5.
- 9- Rajcowski, K.T., Rice, E. W., (2001). "Growth and Recovery of Selected Gram-Negative Bacteria in Reconditioned Wastewater", J. Food Prot., vol. 64, No. 11, pp:1261-1267.
- 10- Muler, H.E., Aleksic, S., Elsarnagawy, D. D., Al-Mashadi, M.A., and Bockemahi, J., (1985). "Spectrum of Gram-Negative Rods in Wastewater from Jedah/Saudi Arabia"; Zentralbl. Bacteriol. Microbiol Hyg., [B]., vol. 182, No. 1, pp: 58-63.
- 11- APHA., (1995). "Standard Methods for the Examination of water and Wastewater", 19<sup>th</sup> Edition, American Public Health Association, New York.