وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی

معاونت سلامت

مرکز سلامت محیط و کار

راهنمای کنترل ویبریوکلرا (Vibriocholerae)

در آب آشامیدنی

۱۳۸٤

فهرست

عنوان ..... صفحه

مقدمه ۱

۱- توصیف ویبریوکلرا ۵

۲- طبقه‌بندی ویبریوکلرا ۵

۳- بیماری شناسی و اپیدمیولوژی ویبریوکلرا ۷

٤-ویبریوکلرا در محیط ۱۵

٥ اثرات تغییرات آب و هوا بر انتقال بیماریهای منتقله از آب ۱۸

٦- ویبریو کلرا در آب ۲۰

۷- کنترل و پیش‌گیری بیماری وبا ۲۷

۸- اقدامات لازم جهت کنترل و پیش‌گیری از انتقال ویبریوکلرا توسط آب ۲۸

۱-۸- دفع بهداشتی مدفوع و فاضلاب ۲۹

۲-۸-- حفاظت و بهسازی منابع آب ۳۰

۲-۸- تصفیه آب آشامیدنی ۳۸

۳-۸- گندزدائی آب ٤۲

۹- پایش و ارزیابی ویبریوکلرا در آب ٤۷

۱۰-عملیات کنترل بهداشتی آب به هنگام بروز و شیوع بیماری وبا ٥٤

ضمیمه ۱: روش آزمون ویبریوکلرا در آب آشامیدنی ٥٦

ضمیمه ۲: کیفیت باکتریولوژیکی آب آشامیدنی ۷۰

منابع ۷۲

مقدمه

ویبریوکلرا 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 ۵۰۳٤ 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 دهۀ اخیر موارد وبای گزارش شده کاهش چشم‌گیری داشته است. بطوریکه در سال ۱۳۷۷ تعداد موارد وبا ۱۲٤۷ 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 ۱۳۸٤ موارد گزارش شده ابتلا به وبا بیش از هزار نفر بوده است.(۱)

بطـور کلـی در برنامــه کـشوری مبــارزه بــا وبــا، تهدیــدهای جــدی در رابطـه بـا شـیوع ایـن بیمـاری عبارتنـد از: فقـر فرهنگـی، اقتـصادی، اجتمـاعی و بهداشـتی، ورود و خـروج اتبـاع بیگانـه از مرزهـای مربوطـه، کمبـود منـابع آب آشــامیدنی ســالم، عــدم وجــود سیــستمهــای جمــعآوری و تــصفیه فاضـلاب، سـوء تغذیـه، عـدم نظـارت مـستمر، عـدم همـاهنگی درون بخـشی و نیـز بـرون بخـشی، هـم چنـین موقعیـت جغرافیـائی خـاص منـاطق درگیـر (بخـصوص سیـستان و بلوچـستان) ناشـی از همجـواری بـا کـشورهائی کـه بـا انـواع بیماریهـای واگیـر دسـت بـه گریبـان هـستند، از جملـه مـشکلات و بلکه معضل اساسی میباشد.

بـدون شـک آلـودگی منـابع آب بـه فاضــلاب و فـضولات بـدلیل عـدم جمــعآوری و تــصفیه مناســب و کمبــود آب آشــامیدنی ســالم از مهمتــرین عوامـل در شـیوع انـواع بیماریهـای واگیـر منتقلـه توسـط آب از جملـه وبـا مــیباشــد. بطوریکــه بــرای اولــین بــار جــان اســنو[1] در۱۸٤٤ در انگلــستان ارتباط بین آب آلوده و بروز وبا را کشف نمود.

بنــابراین آب آلــوده مــیتوانــد بعنــوان یکــی از مهمتــرین عوامــل جهــت انتقــال ایــن بیمــاری در نظــر گرفتــه شــود و در صــورت آلــودگی آب آشـامیدنی جمعیـت زیـادی از افـراد در یـک زمـان کوتـاه بـه ایـن بیمـاری مبـتلا مــیشــوند و بیمــاری بــه صــورت یــک اپیــدمی حــاد بــروز نمایــد. بطوریکه بررسیهای انجـام شـده در مـورد همـهگیریهـائی کـه تـا کنـون در کشور ما اتفـاق افتـاده اسـت، نـشان مـیدهـد کـه منـشا اغلـب ایـن اپیـدمیهـا آلـودگی منـابع آب آشـامیدنی، بوسـیله فاضـلاب بـوده اسـت. بـه عبـارت

[1]- 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 ویبریوکلرا در آب آشامیدنی تهیه شده است دربردارندهٔ مطالبی است که می‌تواند جهت ناظرین بهداشتی بر تأمین آب مورد استفاده قرار گیرد. این مطالب شامل آشنائی با ویبریوکلرا، نحوهٔ 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 تهیهٔ 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 می‌نماید.

دکتر احمدرضا یزدانبخش

استادیار گروه بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۱ـ توصیف ویبریوکلرا[1]

ویبریوکلرا، از خانوادهٔ ویبریوناسه، باکتری میله‌ای شکل خمیده، بی‌هوازی اختیاری، گرم منفی، بدون تشکیل اسپور می‌باشد. این باکتری در حدود ۲/٦-۱/٤ میکرون طول دارد. این باکتری قادر به متابولیسم از طریق تنفس و تخمیر است.(۲)

ویبریوکلرا، اکسید از 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 نوترینت‌آگار بدون افزودن NaCL باشد.(۳)

۲ـ 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، بوسیلهٔ آنتی سرم‌های ضد این پادگن، این ارگانیسم‌ها را به ٦ گروه مختلف O1 تا O6 طبقه‌بندی نموده‌اند. (۳)

ویبریوکلرا O1 براساس آنتی ژن‌های A,B,C به سروتیپ‌های اگاوا[2]، اینابا[3] و هیکوجیما[4] تقسیم می‌شوند. اگاوا و اینابا نام بیمارانی است که

---

[1]- Vibrio cholerae

[2]- Ogave

[3]- Inaba

[4]- Hikojima

بـرای اولـین بـار ایـن سـروتیپ‌هـا در آنهـا تـشخیص داده شـده اسـت. هیکوجیما نـام یکـی از ایـستگاههای قرنطینـه واقـع در کـشور ژاپـن مـی‌باشـد کـه بـرای اولـین بـار یکـی از افـراد حامـل ایـن سـروتیپ را در آن مکـان یافتنـد. هـر سـه دارای پـادگن گروهـی سـوماتیک A هـستند. سـروتیپ اگـاوا پـادگن سـوماتیک B نیـز دارد. اینابـا دارای پـادگن A و C و هیکوجیمـا دارای هر سه نوع پادگن A و B و C است.

بیوتیپ التـور کـه بـرای اولـین بـار در التـور یکـی از ایـستگاههای قرنطینـه در مـصر شناسـائی شـد. دارای خاصـیت همولیتیـک اسـت و در مقابـل پلـی پگزین B مقاوم می‌باشد و گلبول قرمز جوجه را آگلوتینه می‌کند.

عـلاوه بـر اخـتلاف‌هـای بیولـوژی و بیوشـیمیائی کـه ویبریـوی عامـل التور بـا سـویه‌هـای کلاسـیک دارد. تفـاوت‌هـای مهمـی هـم بـین آنهـا موجـود مـی‌باشـد. عامـل التـور مقـاومتر اسـت. مـدت زمـان بیـشتری در محـیط آب زنده مـی‌مانـد. نـسبت مـوارد عفونـت ناشـی از ایـن میکروارگانیـسم بـه مـواد بیماری حاصله بیشتر است.

چنـدین نـوع ویبریـون دیگـر وجـود دارد کـه قـادر بـه ایجـاد علائـم شـبه وبا در انسان مـی‌باشـند ولـی بـه گروههـای پـادگن O دیگـری متعلـق بـوده و بـا آنتـی سـرم O1 آگلوتینـه نمـی‌شـوند. بنـابراین بـه ویبریوهـای NAG[1] معروف می‌باشند (۳و٤)

[1]- Non Agglutinating

۳ـ بیماری شناسی و اپیدمیولوژی ویبریوکلرا

ویبریوکلرا عامل بیماری وبا (کلرا) می‌باشد. وبا نوعی بیماری حاد است که در اثر آنتروتوکسین ویبریوکلرای کلونیزه شده در رودهٔ 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، اسیدوزمتابولیک و مرگ بیمار منجر می‌گردد.

Dupont (۱۹۷٤) و Eugen (۱۹۷٤) تعداد تقریبی ارگانیسم ویبریوکلرا را جهت ایجاد این بیماری $۱۰^{۹}$–$۱۰^{٦}$ عدد ذکر کرده‌اند.

دوره نهفتگی این بیماری چند ساعت تا چند روز و به طور معمول در حدود ۲ تا ٥ روز است. به دنبال دورهٔ 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 ٦ 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 وبا، وقتی شدت دهیدراتاسیون به ۲ تا ۳٪ وزن بدن برسد بیمار دچار تشنگی شدیدی می‌شود وگر چه 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.(٤)

در حال حاضر سروتیپ‌های O1 و O139 (نوع جدیدی از ویبریوکلرای غیر O1 بنام ویبریوبنگال سبب بروز اپیدمی در بنگلادش و هند گردید) عامل وبا به حساب می‌آیند. تا همین اواخر گروه سروتیب O1 تنها علت وبای اپیدمیک بوده است. در اواخر سال ۱۹۹۲ وبا شناسائی سروتیب 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 وبا طی پاندمی قرن نوزدهم، بارها از هندوستان به بسیاری از نقاط دنیا منتشر شده است. ولی در نیمهٔ اول قرن بیستم، به طور عمده به آسیا محدود بوده است. فقط همه‌گیری شدیدی در سال ۱۹٤۷ در کشور مصر رخ داده است. وبا بومی دلتای رود گنگ در شبه قارهٔ هند می‌باشد. از سال ۱۸۱۷ تاکنون هفت پاندمی گسترده روی داده است. پاندمی فعلی (پاندمی هفتم) در سال ۱۹٦۱ از اندونزی و ابتدا بعلت بیوتیپ التور آغاز شد. سپس در سرتاسر آسیا منتشر گردید و در بسیاری از نواحی، ویبریوکلرای 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. تاریخچهٔ اخیر وبا در افریقا حاوی موارد متعدد و شدیدی از طغیان بیماری می‌باشد که غالباً آشفتگی‌های ناشی از جنگ

و قتل عـام زمینـه‌سـاز آنهـا هـستند. یکـی از ایـن مـوارد در سـال ۱۹۹٤ و در اردوگاههـای آوارگـان رونـدایی در اطـراف گومـای زئیـر روی داد کـه طـی آن ده‌هـا هـزار نفـر مبـتلا شـده و تعـداد زیـادی فـوت شـدند. وقـوع صـدها مـورد وبـا در رومـانی و اسـتان سـابق دریـای سـیاه اتحـاد جمـاهیر شـوروی در سـال ۱۹۹۵، نـشان دهنـدهٔ قـدرت ارگانیـسم مزبـور در ایجـاد اپیدمی بهنگام افت مراقبت‌های بهداشت عمومی می‌باشد.

از سـال ۱۹۷۳ بـه بعـد در طـول خلـیج ایـالات متحـده و سـواحل لوئیزیانـا و تگـزاس، عفونتهـای پراکنـده و انـدمیک ناشـی از ویبریوهـایی مـشاهده شده کـه بـا سـوش‌هـای پانـدمی هفـتم خویـشاوند مـی‌باشـند. ایـن عفونـت‌هـا معمـولاً بـدنبال مـصرف صـدف‌هـای آلـوده‌ای روی مـی‌دهنـد کـه در همـان محـل پـرورش داده شـده‌انـد. گـاهی مـواردی از بیمـاری در نقـاطی از ایـالات متحده مـشاهده گردیـده کـه دورتـر از سـاحل خلـیج مزبـور قـرار دارنـد. ایـن موارد نیز بعلت حمل غذاهای دریایی خلیج به آن نقاط روی داده‌اند.

بـا اینکـه رسـیدن پانـدمی وبـا بـه آمریکـای لاتـین واقعـه‌ای بـود کـه از مدت‌هـا پـیش انتظـار آن مـی‌رفـت، تنهـا در سـال ۱۹۹۱ ایـن منـاطق را درگیـر نمـود. بیمـاری ابتـدا در ژانویـهٔ ۱۹۹۱ از سـواحل پـرو آغـاز گردیـد و مـاهیگیران آنـرا بـه اکـوادور و کلمبیـا رسـاندند. سـپس بـصورت اپیـدمی انفجـاری در تقریبـاً تمـامی امریکـای جنـوبی و مرکـزی و مکزیـک منتـشر گردیـد. در اولـین سـال طغیـان بیمـاری حـدود ٤۰۰۰۰۰ مـورد گـزارش گردیـد و تـا انتهـای سـال ۱۹۹٤ ایـن تعـداد بـه یـک میلیـون نفـر رسـید. بـا اینکـه میـزان مـرگ و میـر تجمعـی زیـر یـک درصـد قـرار داشـت امـا در جوامعی کـه بـرای اولـین بـار دچـار طغیـان بیمـاری گردیدنـد ایـن میـزان بـه ۳۰ درصـد نیـز رسـید. زیـرا عـدم آشـنایی بـا بیمـاری منجـر بـه بکـارگیری

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 دهۀ قبل در افریقا روی داد و سوش‌های التور اپیدمیک بجای زندگی در فرورفتگی‌های خلیج‌های آبهای شور به آبهای داخلی خوگرفتند، در امریکای لاتین نیز ارگانیسم‌ها 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 مذبور نتوانستند در ایالات متحده گسترش یابند، وقایعی این چنینی، 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 ویبریوکلرآ می‌باشد که نه به گروه سرولوژیک 01 (که معمولاً موجب وبای اپیدمیک می‌گردد) و نه به هیچکدام از ۱۳۷ گروه سرولوژیک شناخته شده تا آنزمان 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 قارهٔ هند و تا پایان سال ۱۹۹٤ به کشورهای مجاور آن نظیر پاکستان، نپال، غرب چین، تایلند و مالزی نیز گسترش یافت.

از آنزمان به بعد بعلت شناسایی آنتی‌ژن 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 می‌باشد. 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 می‌باشد، بیمارانی در تمامی سنین را مبتلا کرده و اکثر موارد آن در بالغین روی می‌دهد. بعلاوه، با توجه به وبای شدید و کشندهٔ ناشی از سوش O139 بنگال، در واقع پاسخ جمعیت مبتلا به بیماری به مثابه جمعیتی بود که برای اولین بار با وبا مواجه می‌شوند. از آنجائیکه ایمنی اکتسابی طبیعی برضد ویبریوکلرای O1، شخص را در برابر سوش O139 بنگال محافظت نمی‌نماید، واکنش‌هایی که علیه نوع اول تولید شده‌اند در مورد نوع دوم کارآمد نیستند.

نظیر اپیدمی‌های گذشتهٔ O1 در نواحی بومی وبا، اپیدمی O139 در ابتدا مصیبت بار بود. برخی از دست‌اندرکاران معتقدند که ظهور ویبریوکلرآی O139، نشانه‌ای از آغاز پاندمی هشتم گستردهٔ وبا می‌باشد. درواقع، 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

عمـده‌تـرین علـت وبـای بـالینی درآمـد. امـا بـا آغـاز سـال ۱۹۹٤ در کمـال تعجـب و بـدور از انتظـار، التـور O1 در بـنگلادش مجـدداً غالـب گردیـد و وبـای O139 بنگـال را بـه عفـونتی زمینـه‌ای و انـدمیک بـدل سـاخت. ایـن رونـد در سـال ۱۹۹۵ نیـز ادامـه یافـت. بـا ایـن وجـود، بـدنبال طغیـان مجـدد بـین قـاره‌ای بیمـاری کـه بواسـطهٔ غـذا و در اوائـل سـال ۱۹۹٤ در میـان مـسافران یـک کـشتی تفریحـی در جنـوب شـرقی آسـیا روی داد، توانـایی O139 بنگـال جهـت گـسترش جهـانی مـورد تأکیـد مجـدد قـرار گرفـت. شـش مـسافر از ٦۳۰ مـسافر (٥ نفـر از امریکـا و یـک نفـر از انگلـستان) بیمـار شـده و علائـم آنهـا تنهـا پـس از بازگشتـشان بـه خانـه آغـاز گردیـد. آنهـا احتمـالاً ارگانیـسم را طـی تـوقفی در تایلنـد کـسب نمـوده بودنـد و منـشاء احتمـالی آن برنجـی بـود کـه در رسـتورانی مخـصوص و طـی وعـدهٔ غـذایی ویژه‌ای مصرف گردید.(٥)

وضعیت بیماری در ایران طی نیم قرن گذشته:

اولـین اپیـدمی وبـای التـور در سـال ۱۳٤٤ در ایـران بـه وقـوع پیوسـت و از آن پـس بیمـاری در کـشور مـا حالـت بـومی بـه خـود گرفـت و همـه سـاله مـواردی از آن بـصورت تـک‌گیـر در کـانون‌هـای پراکنـده و هرچنـدگاه یک‌بار بصورت همه‌گیری‌های کوچک و بزرگ بروز می‌کند.

ایـن بیمـاری از اپیـدمی سـال ۱۳٤٤ تـا کنـون ۹ بـار بـه اوج رسـیده کـه عبارتند از:

سـال ۱۳٤۹، ۱۹٦٦۳ مـورد؛ سـال ۲۹٦٦،۱۳٥٤ مـورد؛ سـال ۱۳٥٥، ۲۱۰۰مـورد؛ سـال ۱۳٥٦، ۱۰۸۳٦مـورد؛ سـال ۱۳٥۸، ۱۸٥٦ مـورد؛ سـال

۱۳٦۰، ٦۱۰۷ مـــورد؛ ســـال ۱۳٦٤، ۱۸۸۸ مـــورد؛ ســـال ۱۳٦۷، ۲٤۸۵ مـــورد؛ سال ۱۳٦۸، ۵۲۲۰ مورد.

همچنـــین طبـــق آمـــار رســـمی کـــه در ســـال ۱۹۹۸ بـــه ســـازمان جهـــانی بهداشـــت، ارایـــه شـــده اســـت. در ســـال ۱۹۹۷ (۱۳۷٦ شمـــسی) مـــوارد ثابـــت شـــدۀ وبـــا در ســـطح کـــشور، بـــالغ بـــر ۱۱۰٦ مـــورد بـــوده اســـت. (طـــی طغیـــان بیماری در سال ۱۳۷۷ بیش از ۱۰۰۰۰ مورد).

نوع عامـل بیمـاریزا در سـال‌هـای ٤٦-۱۳٤٤ اگـاوا، سـه سـال بعـد اینابـا و تـا سـال ۱۳۵٦ بـه طـور متنـاوب اینابـا و اگـاوا و از آن سـال بـه بعـد، اگـاوا بوده است.

بیمـاری، همـه سـاله در بـسیاری از اسـتان‌هـای کـشور، بـصورت تـکگیـر گزارش مـی‌شـود، بـه طـوری کـه در بعـضی از منـاطق، همـه سـاله، مـواردی وجـود دارد و در بعـضی از منـاطق دیگـر همـه‌گیـری‌هـایی رخ مـی‌دهـد. ایـن اســـتان‌هـــا عبارتنـــد از تهـــران، آذربایجـــان شـــرقی، خوزســـتان، خراســـان، سیـــستان و بلوچـــستان، اصـــفهان و کردســـتان. بیمـــاری وبـــا التـــور، بیـــشتر در شهرها اتفاق مـی‌افتـد و میـزان مـرگ و میـر آن طـی همـه‌گیـری‌هـا حـدود ۱/۲٪ می‌باشد.

بررســـی‌هـــای انجـــام شـــده در مـــورد همـــه‌گیـــری‌هـــایی کـــه تـــا کنـــون در کـــشور اتفـــاق افتـــاده اســـت، نـــشان مـــی‌دهـــد کـــه منـــشأ اغلـــب ایـــن اپیـــدمی‌هـــا آلـــودگی منـــابع آب آشـــامیدنی، بوســـیلۀ فاضـــلاب بـــوده اســـت. بـــه عبـــارت دیگـــر، اپیـــدمی‌هـــا در منـــاطق اتفـــاق مـــی‌افتـــد کـــه از نظـــر بهداشـــت آب و فاضـــلاب ضـــعیفترند و ایـــن واقعیـــت را حتـــی در تـــاریخ پزشـــکی ۱۷۰ ســـال گذشته کشور نیز می‌توان ملاحظه کرد.(٤)

۴ـ ویبریوکلرا در محیط

گرچه انسان مخزن اصلی ویبریوکلرا (عامل وبا) محسوب می‌شود، ولی برطبق شواهد موجود ممکن است مخازن محیطی نیز وجود داشته باشد. ویبریوکلرا از طریق مدفوع فرد آلوده به محیط دفع می‌شود. تعداد ویبریوکلرای 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 ٦۰ لیتر و به طور معمول بالغ بر ۱۰ تا ۲۰ لیتر مدفوع آبکی 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 عقب نگه 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 میکروارگانیسم‌ها 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 ویبریوکلرا به اطراف منتشر می‌کنند، به طوری که شاید تعداد ویبریوها در هر گرم

مدفوع آنها از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ عدد تجاوز نکند ولی از آنجا که هیچگونه کنترلی بر روی چنین افرادی وجود ندارد، احتمال آلودگی محیط بوسیلهٔ آنها بسیار زیاد می‌باشد. از طرفی طی مطالعه‌های بالینی ممکن است مورد شک واقع نشوند، یا حتی مدفوع آنها نتیجهٔ 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 ویبریوکلرا 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 نحوهٔ انتقال بیماری را می‌توان در ٥ مورد زیر عنوان نمود:

۱ــ از طریق آب آلوده به مدفوع یا مواد استفراغ شده از مبتلایان به وبا

۲ـ از طریق آب آلوده به مدفوع حاملان ویبریوکلرا با وسعت کمتر

۳ــ از طریق خوردن مواد غذائی آلوده به آبهای کثیف، مدفوع یا دست‌های آغشته به خاک‌های آلوده

٤ـ از طریق مگس

٥ــ خوردن بعضی از انواع خرچنگ و صدف‌هائی 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.(٤)

مدت زمان زنده ماندن ویبریوکلرا در شرایط مختلف یکسان نمی‌باشد بطوریکه در یخچال به مدت طولانی‌تر از دمای اطاق 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 غذائی 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 ٥ روز بر روی پارچه‌های کتانی زنده می‌مانند و در صورت مرطوب بودن محیط حتی به مدت ٥ هفته نیز ممکن است به حیات خود ادامه دهند. دوام این باکتری بر روی پشم در حدود ٤ روز، بر روی چرم به مدت ٢ 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.(٤)

۵-اثرات تغییر آب و هوا بر بیماری های 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 ومنتقله توسط بندپایان به اثبات رسیده ،و مدارک قوی دال بر ارتباط بین تغییرات جوی و افزایش در میزان بروز بیماری های عفونی نظیر مالاریا و بیماری های اسهالی اندمیک نظیر کلرا و شیگلوز وجود دارد. از پدیده های جوی مهم در این زمینه می توان به پدیده ال نینو اشاره نمود. مطالعات نشان داده است که به موازات بحران های جوی یک دوره ال نینو ممکن است تغییراتی در میزان بروز و شیوع بیماری ها اتفاق افتد. ال نینو در زبان اسپانیائی به تولد حضرت مسیح اطلاق می شود. و بیانگر اختلالی است که در جریان آبهای اقیانوسی در حاشیه ساحل غربی آمریکای جنوبی رخ می دهد. این پدیده می تواند در دوره زمانی کریسمس رخ می دهد و از اینرو به ال نینو معروف می باشد. در اثر این پدیده جریان آب سرد غنی از مواد غذائی در نواحی ساحل همبولت به وسیله جریان گرم اقیانوس از طرف شرق که مواد غذائی کمی دارد جایگزین می شود. حوادث ال نینو هر سه تا پنج سال یکبار تکرار گردیده و هر بار همراه با کاهش فاجعه آمیز و زیان های اقتصادی و بهداشتی بوده است.تغییر در فشار ، نوسانات در قدرت وزش بادها، جریانهای اقیانوسی، تغییرات دمای سطح دریاها و بارش در نواحی مختلف است. این پدیده حتی اقلیم های دور دست را تحت

تـأثیر قـرار مـی دهـد و در انتقـال بیمـاری هـا تـأثیر مـی گـذارد. طغیـان سـندرم حـاد تنفـسی هانتـا ویـروس در سـال ۱۹۹۳ در آمریکـا ، خکشکـسالی در آسـیای جنـوب شـرقی ، بخـش هـائی از اسـترالیا و قـسمت هـائی از آفریقـا و بـارش سـنگین و سـیل در نـواحی لـم یـزرع آفریقـا و آمریکای جنوبی در ارتباط با ال نینو مشاهده شده است.

ال نینـو و آشـفتگی هـای جـوی مـشابه ، بهداشـت انـسان را عمـدتأ ار طریـق بلایـای طبیعـی و طغیـان هـای بیمـاری هـای عفـونی تحـت تـأثیر قـرار مـی دهنـد. تغییـرات آب و هـوائی سـبب افـزایش یـا کـاهش در بارنـدگی مـی شـود کـه مـی توانـد بـه بلایـای طبیعـی نظیـر سـیل و حشکـسالی منتهـی گـردد. بـه عـلاوه وزش بادهـای قـوی نظیـر گردبادهـا ممکـن اسـت در تعـداد و شـدت متفـاوت رخ دهـد. تغییـرات آب وهـوا در بعـضی از منـاطق جهـان روی کنتـرل مالاریـا نیـز تـأثیر داشـته اسـت. زیـرا ایـن تغییـرات جـوی مـی توانـد مکـان هـای تولیـد مثـل ناقـل را تحـت تـأثیر قـرار دهـد. افـزایش میـزان بروز مالاریا هم زمـان بـا حـوادث ال نینـو در سراسـر جهـان ثبـت شـده انـد. وقـوع چنـین اپیـدمی هـائی در بولیـوی ، کلمبیـا، اکـوادور، پـرو و ونـزوئلا در آمریکـای جنـوبی در رونـدا در آفریقـا و در پاکـستان و سـریلانکا در آسـیا به اثبات رسیده است.

شـواهد حـاکی از آن اسـت کـه ارتبـاط نزدیکـی میـان تغییـرات جـوی و شـیوع بیمـاری وبـا وجـود دارد. از سـپتامبر ۱۹۹۷ وضـعیت مـضمحل کننده ای از بیمـاری وبـا در شـاخ آفریقـا وجـود داشـته اسـت. بطوریکـه پـس از بارنـدگی هـای سـنگین و سـیل هـا ، اغلـب کـشورهای ایـن منتطقـه افـزایش ناگهـانی در تعـداد مـوارد مـرگ و میـر هـای ناشـی از وبـا گـزارش شـده اسـت.در سـال ۱۹۹۷، تعـداد کلـی ٤٠٢٤٩ مـورد وبـا بـا ۲۲۳۱ مـورد مـرگ

در تانزانیا گزارش گردیده است . که در مقایسه با سال ۱۹۹٦ با ٦٨١٤ مورد وبا و۳۵ مورد مرگ افزیش قابل ملاحظه ای را نشان می دهد . که این افزایش به خاطر تغییرات جوی بوده است. (۲۰،۲۱)

تاثیر 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 غیز مسقیم بر زنده ماندن عوامل پاتوژن روده ای مثل ویبریو کلرا با افزیش منبع غذائی 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)

۶ـ ویبریوکلرا در آب

تأمین آب آشامیدنی و بهداشتی سالم مهمترین فعالیت جهت حفظ سلامتی افراد یک اجتماع می‌باشد، مصرف آب آلوده مهمترین عامل مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. بطور مثال روزانه نزدیک به ۲۵۰۰۰ نفر در سراسر جهان به دلیل مصرف آب آلوده جان خود را از دست می‌دهند. ۲۵ درصد تخت‌های بیمارستانی توسط افرادی اشغال شده است که در اثر آب آلوده بیمار می‌شوند(۱و۲) براساس اظهار یونیسف ۳/۸میلیون کودک زیر ۵ سال در سال ۱۹۹۳ از بیماری اسهال در سراسر جهان مرده‌اند، در هندوستان بیش از ۳۰۰۰۰۰ کودک هر ساله اغلب توسط بیماری‌های منتقله بوسیلهٔ آب می‌میرند.(۳)

اولین بار جان اسنو[1] در سال ۱۸۸٤ 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)

[1]- John Snow

جدول ۱: عوامل بیماریزای منتقله توسط آب و اهمیت آنها در منابع آب آشامیدنی(٦)

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(٤)	بالا	O	طولانی	کم	بالا	بله
شیگلا(٥)	بالا	O	کوتاه	کم	متوسط	خیر
ویبریوکلرا(٦)	بالا	O	کوتاه	کم	بالا	خیر
یرسینیا(۷)	بالا	O	طولانی	کم	بالا	بله
لژیونلا(۸)	متوسط	I	متغیر	متوسط	بالا	خیر
سودوموناس ـ آئروژنس	متوسط	C, IN	متغیر	متوسط	بالا	خیر
گونه‌های ـ 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
انترویروس (۱۱)	بالا	O	طولانی	متوسط	پایین	خیر
هپاتیت A (۱۲)	بالا	O	طولانی	متوسط	پایین	خیر
هپاتیت E	بالا	O	؟	؟	پایین	احتمال دارد
نورواک ویروس	بالا	O	؟	؟	پایین	خیر
روتاویروس(۱۳)	بالا	O	؟	؟	متوسط	خیر (؟)
ویروسهای کوچک دایره شکل بجز نورواک ویروس	متوسط	O	؟	؟	پایین	خیر
تک یاخته‌ها						
انتاهباهستیو(١٤) ـ لیتیکا	بالا	O	متوسط	بالا	پایین	خیر
زباردیااینتیس ـ تینالیس(١٥)	بالا	O	متوسط	بالا	پایین	بله
کریپتوسپور ـ بدیوم پاروم (١٦)	بالا	O	طولانی	بالا	پایین	بله
گونه‌های اکانتامبا	متوسط	C,I	متغیر	بالا	؟	خیر
نگلربافاولری (۱۷)	متوسط	O	متغیر	متوسط	پایین	خیر
بالانتیدیوم کلی(۱۸)	متوسط	O	؟	متوسط	پایین	بله
کرمها						
دراکونکولوس ـ مدیتنسیس (۱۹)	بالا	O	متوسط	متوسط	متوسط	بله
گونه‌های شیستوزوما(۲۰)	متوسط	C	کوتاه	پایین	پایین	بله

زیرنویس جدول:

؟ شناخته نشده یا نامعین است

(۱) O= دهانی، I= تنفس آئروسل 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.

(٤) 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. ویبریوکلرا 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 ویبریوکلرا 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.

ویبریوکلرا مدت زمان طولانی به عنوان یک استثناء 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 دهۀ ۱۹۷۰ به عقیدۀ اکثر محققین ویبریوکلرا به عنوان ارگانیسمی درنظر گرفته می‌شد که محل زندگی آن روده انسان بود و قادر به ادامه حیات تا بیش از چند روز در خارج از رودۀ 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، ویبریوکلرای 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 ویبریوکلرا از آب بندرت با موفقیت همراه است. تکنیک‌های پیشرفته‌تر با استفاده از ایمونو فلورسنس میکروسکوپی مستقیم، هیبریدیزاسیون DNA، PCR[1] و روش‌های غنی‌سازی پیشرفته اغلب باعث جداسازی ویبریوکلرا O1 و غیر O1 حتی در غیاب باکتریهای متداول شاخص آلودگی مثل اشرشیاکلی یا استرپتوکوک مدفوعی شده است. این امر نشان می‌دهد که ویبریوکلرا می‌تواند مدت زمان بیشتری نسبت به ارگانیسم‌های مدفوعی دیگر در محیط زنده بماند، یا اینکه ویبریوکلرا یک میکروارگانیسم محیطی نیز می‌باشد.

1-Polymerase chain reaction

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

می‌تواند در محیط‌های آبی وجودداشته باشد. توزیع ویبریوکلرا 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 ویبریوکلرا در آب دارای دمای ٤ درجه سانتی‌گراد را ۳٤ روز و در یخ ۲۱ روز اعلام نموده است.(۹) بوتین[۲] و همکارانش مدت زمان زنده ماندن ویبریوکلرا در آب دریا (آب شور) را ۲۱ روز عنوان نموده‌اند.(۱۰)

ویبریوکلرا در محیط آب به انواعی از جلبک، حلزون، سخت‌پوست وزئوپلانکتون‌ها متصل شده و در شرایط مساعد دما، درجه شوری و وجود مواد غذائی 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 ایمنوفلورسانس 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 کلرزنی آب نیز مقاوم باشد. ویبریوهای

---

[۱]- Miller

[۲]- Boutin

التـور در فاضـلاب تـا بـیش از یـک مـاه مقاومـت مـی‌کننـد. هـم چنـین ویبریـوکلرا در آبهـای قلیـائی، pH بـین ۸/۲ تـا ۹/۷ و حـاوی کلرایـد و مـواد مغـذی آلـی مقاومـت بـالائی دارنـد. بررسـی‌هـای متعـدد نـشان مـی‌دهـد ویبریـوکلرا بطـور گـسترده در محـیط‌هـای آبـی منـاطق حـاره و معتـدل وجـود دارد و میـزان مـواد آلـی و غیرآلـی، میـزان امـلاح آب، شـوری آب، دمـا، pH آب، تغییـرات اکـسیژن و تمـاس بـا اشـعه مـاوراء بـنفش در توزیـع و بقای این میکروارگانیـسم در محـیط‌هـای آبـی مـؤثر مـی‌باشـد. یـک ارتبـاط خطـی بـین ویبریـوکلرا بـا شـوری مـشاهده شـده اسـت. بـدین ترتیـب در مـیحط‌هـائی کـه شـوری آن بـین ۰/۲ تـا ۲ درصـد اسـت ویبریـوکلرا بـا فراوانـی بیـشتری جـدا شـده اسـت. تـأثیر دمـا، شـوری و pH آب در بقـاء و رشـد ویبریـوکلرا O1 در همزیـستی بـا سـخت پوسـتان آبهـای شـیرین و شور مـورد بررسـی قـرار گرفتـه اسـت. بطوریکـه ۱۵ درصـد شـوری، دمـای ۳۰ درجـه سـانتیگراد و pH برابـر ۸/۵ باعـث افـزایش اتـصال و تکثیـر ویبریوکلرا بر روی سخت پوستان خواهد شد.

همزیـستی ویبریـوکلرا بـا محـدودهٔ وسـیعی از آبزیـان مـشاهده شـده اسـت کـه شـامل سـیانوباکتر، دیاتومـه، جلبـک سـبز رشـته‌ای، خرچنـگ آبـی، پرتوزئرها و... می‌باشد.

ویبریـوکلرا بوسـیله کیتـین و موکوسـی کـه تولیـد مـی‌نمایـد بـه انـواع ارگانیسم‌های آبـزی مـی‌چـسبد، بنـابراین توصـیه شـده اسـت کـه در شـرایط همه‌گیری در کلنـی‌هـای سـطح جلبـک‌هـا، فیتوپلانکتـون‌هـا و در گیاهـان آبـی، جـستجو شـود. در یـک همـه‌گیـری منطقـه‌ای در رود دلتـای گانـگ، سـخت‌پوسـتان آبـزی از کیتـین تولیـد شـده توسـط ویبریـوکلرا بعنـوان منبـع غـذائی اسـتفاده کـرده‌انـد. ویبریـوکلرا حتـی در آبهـای آشـامیدنی کـه

بـصورت مناسـب نگهـداری و ذخیـره مـی‌شـوند مـی‌توانـد رشـد و تکثیـر نماید و در محیط‌هـای آبـی همـراه سـیانو بـاکتر، جلبک‌هـا و زئوپلانکتـون‌هـا می‌تواند یافت شود.(۳)

۷ـ پیش‌گیری و کنترل بیماری وبا

مهمتـرین عامـل در شـیوع و گـسترش بیماریهـای واگیـر بخـصوص وبـا را مـی‌تـوان عـدم رعایـت معیارهـای بهداشـتی بخـصوص بهداشـت فـردی و بهداشـت محـیط عنـوان نمـود. رعایـت بهداشـت عمـومی و محـیط بـستگی بـه عوامـل زیـادی بخـصوص وضـعیت اقتـصادی. اجتمـاعی و فرهنگـی افـراد جامعه دارد.

اقدامات در رابطه با پیش‌گیری اولیه شامل:

۱ــ ارتقـای آگـاهی‌هـای بهداشـتی مـردم و بخـصوص افـراد در معـرض خطر در خصوص پیشگیری از انتقال بیماری وبا

۲ــ تـأمین آب آشـامیدنی سـالم توسـط سـازمان‌هـای تـأمین کننـده آب از نظر کمی وکیفی

۳ــ دفـع بهداشـتی فاضـلاب و مـدفوع و فـراهم کـردن امکانـات مناسـب برای شستشوی دست‌ها

٤ــ کنتـرل بهداشـتی مـواد غـذایی در سـطوح مختلـف تولیـد، توزیـع و مـصرف و آمـوزش بـه مـردم در رابطـه بـا گنـدزدائی سـبزیجات و میوه‌جات.

۵ـ کنترل حشرات بخصوص مگس

٦ــ واکـسیناسیون وبـا و پـیش‌گیـری داروئـی، گرچـه موفقیـت در ایـن زمینه زیاد نیست و معمولاً قابل توصیه نمی‌باشد.

۷- برقـراری سیـستم نظـارتی در خـصوص کنتـرل آب آشـامیدنی از طریق کنترل های کیفی و بازرسی های بهداشتی از تأسیسات آب

۸- اعـلان بـه هنگـام مـشکلات و معـضلات بـه ارگانهـای درون بخـشی (سطوح بالاتر و .....) و برون بخشی و پیگیری برطرف شدن آنها.

۹- اعـلان خطـر بـالقوه همـه گیـری بـه ارگانهـای درون بخـشی وبـرون 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- برقـراری سیـستم نظـارتی و پـایش در سـطوح مختلـف جهـت ارزیابی فعالیت های انجام شده.

۱۳- توانمنـد سـازی و حـساس سـازی نیروهـای عملیـاتی از طریـق برگزاری کارگاه ها و جلسات آموزشی.

۸ـ اقدامات لازم جهت پیش‌گیری از انتقال ویبریوکلرا توسط آب

همانگونـه کـه در بخـش قبـل عنـوان شـد یکـی از راههـای مهـم در کنتـرل و پـیش‌گیـری بیمـاری وبـا تـأمین آب سـالم و بهداشـتی در یـک اجتمـاع مـی‌باشـد. بـه منظـور کنتـرل بهداشـتی آب آشـامیدنی مهمتـرین اقـدام جلـوگیری از آلـودگی منـابع آب یـک اجتمـاع توسـط فاضـلاب مـی‌باشـد. در صـورتیکه منبـع آب سـالم باشـد. تـصفیه و گنـدزدائی آب اقـدامات تکمیلـی جهـت اطمینـان از سـالم بـودن آبـی اسـت کـه بـه دسـت مـصرف‌کننـده مـی‌رسـد. در ایـن بخـش اقـدامات مناسـب جهـت کنتـرل بهداشـتی آب ارائـه شده است:

۱ـ۸ـ دفع بهداشتی مدفوع و فاضلاب

دفـع غیربهداشـتی مـدفوع و فاضـلاب خـانگی عامـل مهمـی در آلـودگی آب و انتقـال بیمـاری اسـت. ویبریـوکلرا مـی‌توانـد از طریـق فـرد آلـوده بخـصوص در مـواقعی کـه بیمـاری بـروز مـی‌نمایـد از طریـق مـدفوع دفـع گـردد، بطوریکـه در هـر ۱۰۰ میلـی‌لیتـر فاضـلاب $۱۰^{۱}$ تـا $۱۰^{٤}$ عـدد از ایـن بـاکتری ممکـن اسـت موجـود باشـد. بـه منظـور جلـوگیری از آلـودگی محـیط بـه ویـژه آلـودگی منـابع آب، دفـع بهداشـتی فاضـلاب از اهمیـت ویـژه‌ای برخـوردار اسـت. در بعـضی از جوامـع بخـصوص جوامـع روسـتائی حتـی ممکـن اسـت از مـستراح‌هـای بهداشـتی محـروم باشـند. توجـه بـه ایـن امـر و دفـع صـحیح فـضولات انـسانی در پـیش‌گیـری از آلـودگی منـابع آب بایـد در اولویـت قـرار گیـرد. بنـابراین در چنـین جـوامعی جهـت حـصول اطمینـان از دفع بهداشتی مدفوع و فاضلاب موارد زیر باید مورد توجه قرار گیرد:

ـــ بررســـی وضـــعیت توالـــت‌هـــای موجـــود برحـــسب اطلاعـــات اپیـدمیولوژیک بدسـت آمـده، آمـوزش لازم بـرای بهـسازی آنهـا بـا توجـه بـه دستورالعمل‌های بهسازی

ـــ ضـدعفونی مـستراحها و مـدفوع بیمـاران و حـاملین اطـراف در منـازل و بیمارسـتان‌هـا بـا اسـتفاده از شـیر آهـک ۲۰٪ یـا کرئـولین ۵٪ یـا پرکلـرین با غلظت ۲۰ppm.

ـــ از رده خـــارج کـــردن آن دســـته از مـــستراحهائیکه موجـــب آلـــودگی آبهـــای ســـطحی و زیرزمینـــی مـــی‌گردنـــد و هـــم‌چنـــین جلـــوگیری از ورود فاضلاب‌ها به نهرها.

ـــ ضـدعفونی محـل‌هـای آلـوده شـده بـه مـدفوع و اسـتفراغ بیمـاران بـا محلول‌های ذکر شـدهٔ شـیر آهـک، کرئـولین یـا پرکلـرین. هـم چنـین مـی‌تـوان از هالامید ۵ در هزار استفاده نمود.(۱۱)

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

طبق مطالعات انجام شده در فرایند لجن فعال که فرایند متداولی جهت تصفیه فاضلاب می‌باشد تانک های هوادهی و ته نشینی تأثیر زیادی در حذف و غیرفعال نمودن عوامل بیماریزا و پارازیت دارند. هم چنین 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 بوسیلهٔ سیلیاته‌ها، جذب بر روی جامدات لجن، یا به تله افتادن در داخل لخته‌های لجن و ته‌نشینی می‌باشد. حذف ویروس‌ها، پروتوزئرهای 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)

۲ـ۸ـ 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

ـ 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)

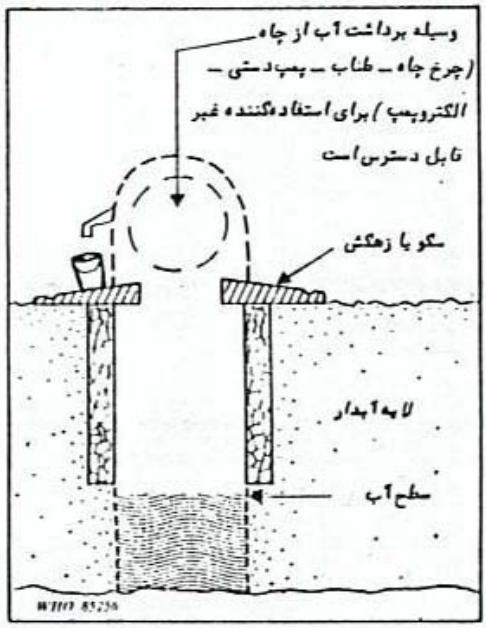
سیستم های استخراج آبهای زیرزمینی و بهسازی این منابع در زیر توضیح داده شده است.

ـ چاههای دستی

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

آشـامیدنی بـسیاری از اجتماعـات کوچـک و خانـه‌هـای شخـصی را تـامین می‌کنند. چاههـای دسـتی آب را از سـفره‌هـای نـسبتاً کـم عمـق نزدیـک سـطح زمـین تـامین مـی‌کننـد و بنـابراین مـی تواننـد بـه آسـانی آلـوده شـوند کـه متـداولترین روش آن نـشت از محـل‌هـای دفـع فـضولات و مـدفوع حیوانـات می‌باشد.

راههـای زیـادی بـرای برداشـت آب از چـاه وجـود دارد امـا بعـضی از روش‌هـا بـه گونـه‌ایـست کـه باعـث آلـودگی آب مـی‌شـوند تنهـا وقتـی کـه هیچگونـه تماسـی بـین شخـصی کـه آب را برداشـت مـی‌کنـد و آب چـاه وجـود نداشـته باشـد مـی‌تـوان سیـستم را تـا حـدودی دارای حفاظـت بهداشـتی بـه حـساب آورد. نمونـه‌ای از یـک چـاه دسـتی بـا حفاظـت مناسـب در شکل ۱ نشان داده شده است.(۱۲)



شکل ۱ ـ چاه دستی حفاظت شده

چک لیست برای چاه‌های دستی

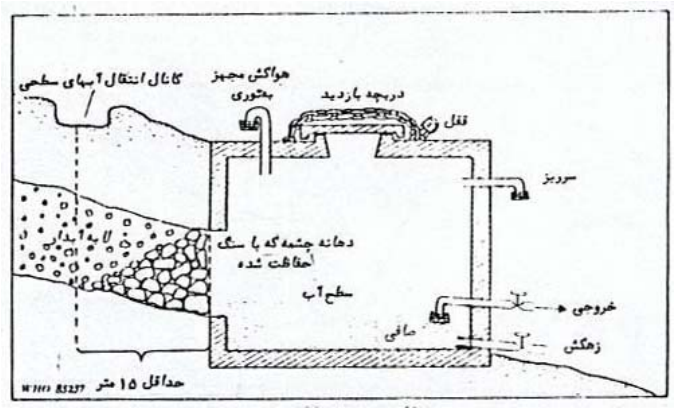
آیـا سیـستم برداشـت آب (چـرخ چـاه، طنـاب و...) بـرای اسـتفاده کننـده، حیوانات، پرندگان، حشرات و غیره، غیرقابل دسترسی است؟

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 منشاء 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 ۲ـ چشمه حفاظت شده

چک لیست برای چشمه‌ها

آیا کانالی برای انحراف آبهای سطحی وجود دارد؟

آیا مخزن جمع‌آوری دارای دریچه بازدید است؟

آیا لولهٔ زهکشی وجود دارد؟

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

چاههای حفر شده با مته[1]

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 (کلرزنی) 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

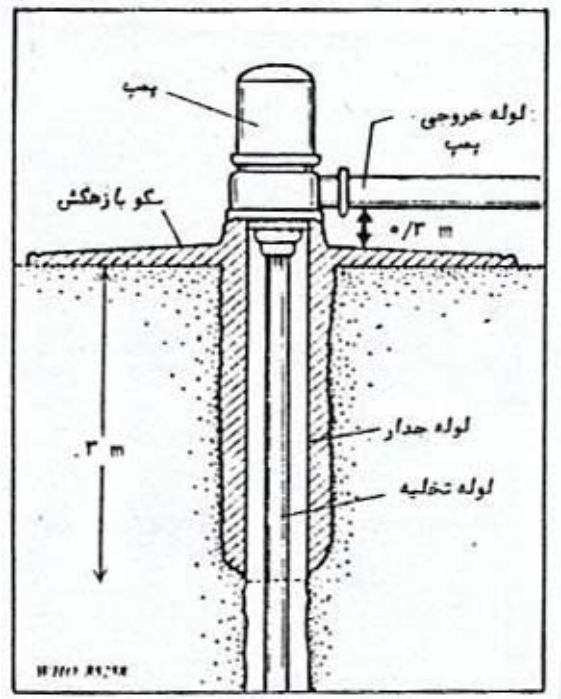
[1]- Drilled wells and boreholes

آیـا یـک سـکوی غیرقابـل نفـوذ و بـتن‌ریـزی کـافی در اطـراف لولـه جـدار برای جلوگیری از ورود آبهای سطحی درنظر گرفته شده است؟

آیـا لولـهٔ جـدار چـاه ۳۰ سـانتیمتر بـالاتر از سـکو قـرار دارد و آیـا فاقـد شکستگی است؟

آیـا لولـه جـدار حـداقل ۳ متـر زیـر سـطح زمـین امتـداد یافتـه اسـت و آیـا فاقد شکستگی است؟

آیـا منـاطق اطـراف چـاه دارای زهکـشی مناسـب بـرای دور کـردن آبهـای سطحی از چاه می‌باشد؟(۱۲)



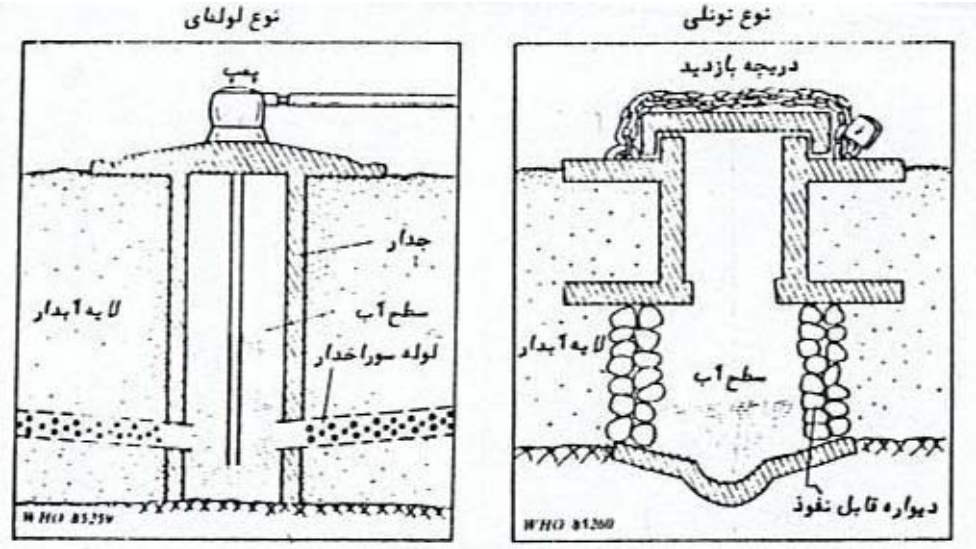
شکل۳ـ چاه حفاظت شده

نقب‌های نشت[۱]

نقـب‌هـای نـشت مجـاری افقـی مـصنوعی هـستند کـه در مجـاورت رودخانـه یـا دریاچـه ایجـاد مـی‌شـوند و از نظـر شـکل و انـدازه متفاوتنـد و ممکن اسـت بـه صـورت لولـه‌هـای سـاده سـوراخدار یـا تونـل‌هـایی بـا مقطـع

[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 ٤ مشاهده می‌شود.



شکل ٤ـ 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؟

آیـا جدارسـازی حـداقل بـه میـزان ۳ متـر در زیـر سـطح زمـین صـورت گرفته است و آیا فاقد شکستگی است؟

آیا مناطق اطراف محل نصب پمپ به خوبی زهکشی می‌شوند؟(۱۲)

آب سطحی

بـه دلیـل قابلیـت و سـهولت آلـوده شـدن آبهـای سـطحی، آب چنـین منـابعی بایـستی قبـل از توزیـع تـصفیه و گنـدزدائی شـود. انتخـاب محـل آبگیـر در اینگونـه مـوارد حـائز اهمیـت فـراوان اسـت محـل آبگیـر بایـد در بالادسـت رودخانـه و حتـی‌الامکـان دور از محلهـای ورود فاضـلاب خـانگی و صنعتی و تخلیه آبهای زهکشی کشاورزی باشد.

لولـه‌هـای برداشـت آب سـطحی بایـد بـه خـوبی محکـم شـوند و از سـاحل رودخانـه یـا دریاچـه بـه انـدازهٔ کـافی دور باشـند. بـرای جلـوگیری از ورود مـواد شـناور دهانـهٔ لولـه آبگیـر نبایـد کمتـر از ۳۰ سـانتیمتر زیـر سـطح آب قرار گیرد همچنـین نقطـه برداشـت بایـد بـه انـدازهٔ کـافی از کـف رودخانـه یـا دریاچـه بـالاتر قـرار گیـرد تـا از ورود لجـن بـه داخـل آن جلـوگیری شـود. حتی در بـدترین شـرایط پمپهـای برداشـت بایـد بـه انـدازهٔ کـافی قـوی باشـند تـا در مقابـل نیـروی جریـان آب رودخانـه مقـاوم باشـند. اگـر الکتروپمـپ‌هـا مـورد اسـتفاده قـرار مـی‌گیرنـد بایـستی کـاملاً در مقابـل رطوبـت حفاظـت شوند.(۱۲)

۳ـ۸ـ تصفیه آب آشامیدنی

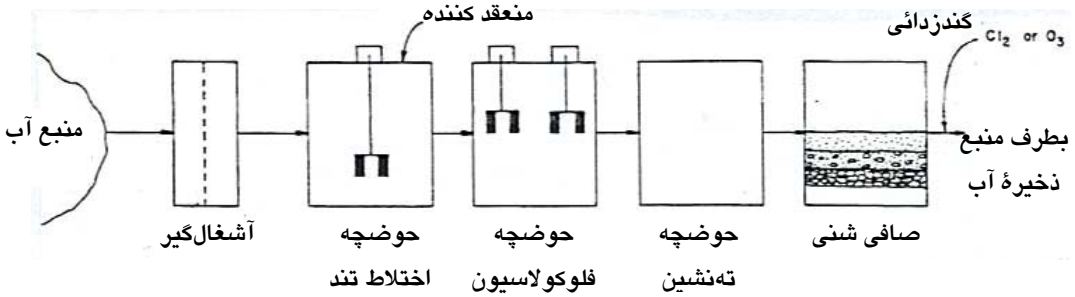
بطـور کلـی آب ممکـن اسـت حـاوی آلاینـده‌هـای شـیمیائی و بیولـوژیکی باشـد کـه ایـن آلاینـده‌هـا بایـد جهـت تولیـد آب آشـامیدنی بطـور مـؤثری حـذف گردنـد. آب تولیـدی بایـد سـالم و از نظـر خـصوصیات ظـاهری بـرای مـصرف کننـده قابـل قبـول باشـد. آلاینـده‌هـای شـیمیایی شـامل نیتـرات، نیتریـت، فلـزات سـنگین، رادیونوکلئیـدها، حـشره‌کـش‌هـا و... مـی‌باشـد. هـم‌چنـین آب تولیـدی بایـد از عوامـل میکروبـی بیمـاریزا، پارازیـت‌هـا، کدورت، رنگ، طعم و بـو عـاری باشـد. بـرای رسـیدن بـه ایـن هـدف آب خـام (بـا سـطحی یـا زیرزمینـی) تحـت یـک سـری از فراینـدهای فیزیکوشـیمائی مورد تصفیه قرار می‌گیرد.

گنـدزدائی بـه تنهـائی، زمـانی کـافی مـی‌باشـد کـه منبـع آب خـام بخـوبی حفاظـت شـده باشـد. همانگونـه کـه عنـوان شـد آبهـای زیرزمینـی از کیفیـت مناسـبتری بـرای شـرب برخـوردار مـی‌باشـند و نـسبت بـه آبهـای سـطحی کمتـر در معـرض آلـودگی قـرار دارنـد، ولـی بهرحـال برحـسب کیفیـت آب زیرزمینـی و احتمـال آلـودگی آن ممکـن اسـت بـه تـصفیه و گنـدزدائی و یـا اغلـب گنـدزدائی بـه تنهـائی نیـاز داشـته باشـد. بخـصوص در چاههـای کـم عمـق سـرباز کـه در معـرض آلـودگی بوسـیلهٔ انـسان و حیـوان و سـایر منابع آلوده کننده می‌باشد.

معمـولاً چنـدین فراینـد بـرای تـصفیه آب مـورد اسـتفاده قـرار مـی‌گیـرد. گنـدزائی ممکـن اسـت بـا کوآگولاسـیون، فلوکولاسـیون و فیلتراسـیون ترکیـب گـردد. تـصفیه‌هـای اضـافی بـرای حـذف ترکیبـات خـاص، شـامل تصفیه با کربن فعال یا پیش هوادهی می‌باشد.

نوع فراینـدهای تـصفیه بـه کیفیـت منبـع آب خـام بـستگی دارد. بطـور کلـی دو نوع تصفیه‌خانهٔ آب اغلب مورد استفاده قرار می‌گیرد:

ـــ **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 کواگولاسیون 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 گندزدائی می‌گردد.



شکل ۵ـ دیاگرام یک تصفیه خانه متداول آب

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

منیـزیم بـه شـکل رسـوب از آب جـدا مـی‌شـوند. بعـد از تـه‌نـشین دادن رسـوبات، آب از صـافی عبـور داده شـده و قبـل از مـصرف گنـدزدائی می‌گردد.

در تـصفیه‌خانـه‌هـای آب، عوامـل میکروبـی پـاتوژن و پارازیـت‌هـا مـی‌تواننـد بطـور فیزیکـی از طریـق فراینـدهایی مثـل کوآگولاسـیون، ترسـیب، فیلتراسـیون و جـذب حـذف گردنـد و یـا توسـط فراینـد گنـدزدایی یـا بوسـیلهٔ pH بالا در نتیجهٔ فرایند سختی‌گیری از آب غیرفعال گردند.(۷)

مطالعـات زیـادی در رابطـه بـا حـذف عوامـل میکروبـی توسـط فراینـدهای تـصفیه آب انجـام شـده اسـت. بطوریکـه ایـن مطالعـات نـشان مـی‌دهـد ایـن فراینـدها توانـائی حـذف ویـروس‌هـا، بـاکتری‌هـا، پروتوزئرهـا و پارازیـت‌هـا را بـا درصـد بـالایی دارا مـی‌باشـند. بعنـوان نمونـه نتـایج چنـد مطالعـه در جدول ۲، ۳و٤ بطور خلاصه ارائه شده است. (۷و۱۳)

جـدول ۲: میـزان ویـروس‌هـا (PFU/100ml) در مراحـل مختلـف تـصفیه 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 بالائی 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 (%)	Tubidity (%)
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 دهندهٔ آن است که این فرایندها بخصوص فرایند فیلتراسیون (با استفاده از فیلترهای شنی کند، تند) باعث حذف این ارگانیسم‌ها می‌گردد. بطوریکه

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

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

بررسی‌های انجام شده نشان داده است که ویبریوکلرا 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 ویبریوکلرا می‌گردد.(۷)

۴ـ۸ـ 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.

گرچـه در سـالهای اخیـر مـشخص گردیـده اسـت کـه کلرزنـی آب مـی‌توانـد منجر به تـشکیل فـرآورده‌هـای جـانبی گـردد کـه ایـن فـرآورده‌هـا مـی‌تواننـد اثـرات بهداشـتی بـر روی انـسان داشـته باشـند. هـم چنـین مـشخص گردیـده اسـت کـه بعـضی از عوامـل بیمـاریزا یـا پارازیـت‌هـا در مقابـل گنـدزداها مقاومت بیشتری را نسبت به میکروارگانیسم‌های شاخص دارند.

بطـور کلـی تفـاوت میکروارگانیـسم‌هـا بـه گنـدزداها را مـی‌تـوان بـا توجـه به نوع میکروارگانیسم به شکل زیر درنظر گرفت.(۷)

کیست پروتوزئرها > باکتریهای تشکیل دهنده اسپور > ویروس‌های روده‌ای > باکتری در حالت رویش

بـا توجـه بـه ایـن مطلـب ویبریـوکلرا را مـی‌تـوان جـزو باکتریهـائی درنظـر گرفـت، کـه در مقابـل عوامـل گنـدزدا مقاومـت زیـادی نخواهـد داشـت. گرچـه اخیـراً گـزارش شـده اسـت کـه ویبریـوکلرا O1 و غیـر O1 ممکـن اسـت بـا تولیـد اپوکـسی سـاکارید بـه شـکل چروکیـده درآمـده کـه در برابـر کلـر و سـایر گنـدزداها مقاومـت بیـشتری را نـشان مـی‌دهـد. (حتـی در میـزان بـالاتر از ۲ میلـی‌گـرم در لیتـر) و در انتقـال بیمـاری وبـا از طریـق آب نقـش دارد. بنـابراین در مـواقعی کـه خطـر آلـودگی آب و انتقـال بیمـاری وجـود دارد باید به این نکته توجه نمود.(۳)

در گنـدزدائی دو عامـل مهـم مـورد توجـه غلظـت مـاده گنـدزدا و زمـان تمـاس مـی‌باشـد. بطوریکـه طبـق قـانون واتـسن ارتبـاط بـین غلظـت مـادهٔ 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= غلظـت مـاده گنـدزدا (mg/l)،t= زمـان لازم بـرای از بـین بـردن درصـد خاصـی از میکروارگانیـسم (min) و n= ثابـت کـه هـم چنـین «ثابـت

رقیق‌سازی» نامیده می‌شود. وقتی زمان در برابر C روی یک کاغذ تمام لگاریتمی رسم می‌شود، n برابر شیب خط است. مقدار n تعیین کنندهٔ اهمیت غلظت ماده گندزدا یا زمان تماس در غیرفعال کردن میکروارگانیسم می‌باشد. اگر n<1 باشد، گندزدائی بیشتر تحت تأثیر زمان تماس می‌باشد و اگر n>1 باشد میزان ماده گندزدا فاکتور کنترل کنندهٔ 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. بهرحال 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 میکروارگانیسم‌ها در آب و فاضلاب دارد.

کلر، بخصوص HOCL، معمولاً به اندازهٔ 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 ججونیi، در حضور کلر آزاد با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان تماس ۵ دقیقه، ۹۹٪ کاهش داشته است.(۱٤)

برای باکتری ویبریوکلرا نیز چنین کاهشی را می‌توان متصور بود. بنابراین گندزدائی مؤثر، باقیماندهٔ 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. ٤ قاشق چایخوری هیپوکلریت کلسیم (١٦ 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 بوسیلهٔ 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 کنندهٔ 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 ۱/۳٦ ولت است) کیفیت شیمیائی و میکروبی آب شرب با استفاده از ازن بهتر خواهد بود، ولی بعلت هزینه بیشتری که برای تولید و بهره‌بردرای از ازن در مقایسه با کلر وجود دارد، رواج آن کمتر است. هم چنین ازن، باقیماندهٔ 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 حدود٤/. تا٥/.

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 ٤ تا ٦ دقیقه می‌باشد. زمان تماس در حال حاضر در دامنه ٤ 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 درمدت 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.

۹ـ 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 باکتریهائی 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 گرماپای) 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 گرمای پای یا اشرشیاکلی کلی می‌باشد. نتایج آنها براساس استانداردهای موجود در رابطه با کیفیت میکروبی آب قضاوت می‌شود.

آزمـایش کلیفـرم‌هـا براسـاس تخمیـر چنـد لولـه‌ای، صـافی غـشائی و یـا تـست P/A[1] انجـام مـی‌شـود کـه در دسـتورالعمل‌هـای موجـود و منـابع هرکدام به تفصیل بیان شده‌اند.

طبـق اسـتاندارد بـاکتریولوژیکی آب کـه براسـاس کلیفـرم‌هـا بنـا شـده اسـت، معمـولاً آبـی سـالم تلقـی مـی‌گـردد کـه در نمونـه بـرداری‌هـای مکـرر آلـودگی بـه کلیفـرم‌هـا بخـصوص کلیفـرم‌هـای مقـاوم بـه حـرارت یـا اشرشـیاکلی ملاحظـه نگـردد. در ضـمیمه ۲، اسـتاندارد بـا کتریولـوژیکی آب آشـامیدنی مربـوط بـه سـازمان جهـانی بهداشـت، و اسـتاندارد باکتریولوژیکی آب آشـامیدنی کـه در کـشور مـا مـورد قبـول مـی‌باشـد آمـده اسـت. بطـور معمـول در پـایش‌هـای مـداوم کنتـرل کیفـی آب آشـامیدنی از نظـر میکروبـی آزمایـشهای مربـوط بـه باکتریهـای بیمـاریزا از جملـه ویبریـوکلرا معمـول نمـی‌باشـد. ضـرورت آزمـایش و تـشخیص ایـن بـاکتری زمـانی مـی‌باشـد کـه مـوارد ایـن بیمـاری در یـک اجتمـاع دیـده شـده و ایـن بیمـاری شـیوع پیـدا نمایـد. بخـصوص در ایـن زمـان کنتـرل‌هـای بهداشـتی، آزمایـشهای مربـوط بـه باکتریهـای شـاخص (مثـل کلیفـرم‌هـا و اسـترپتوکوک‌هـای مـدفوعی) بایـد بـا دقـت و تعـداد دفعـات بیـشتری انجـام شـود. اهمیـت جـستجوی ویبریـوکلرا همـراه بـا آزمـایش‌هـای مربـوط بـه باکتریهـای شـاخص بـه ایـن علـت اسـت کـه، همانگونـه کـه ذکـر شـد ایـن بـاکتری ممکـن اسـت در غیـاب باکتریهـای شـاخص در آب، وجـود داشـته باشـد. از طـرف دیگـر تعیـین حـضور ویبریـو کلـرا در منـابع آب خـام قبـل از بـروز بیمـاری مـی توانـد بـه عنـوان زنـگ خطـر جهـت تـشدید اقـدامات 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 ویبریوکلرا 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 ویبریوکلرا 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 پلی اتیلن نمونه‌برداری و جمع‌آوری شوند.(۳)

نمونه‌ها باید در داخل یک محفظه خنک (دما ۱۰°C-٤) نگهداری و در عرض ٦ ساعت جهت آزمون به آزمایشگاه انتقال داده شوند.(۲و۱٦)

ـ روش آزمایش ویبریوکلرا

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

ولـی بـرای نمونـه آبهـای آشـامیدنی روش تغلـیظ بـا اسـتفاده از صـافی غشائی توصیه می‌شود.

روشهای تغلیظ

۱ـ روش محیط دیاتومه‌ای

۲ـ نمونه‌گیری با حجم بالا

۳ـ روش فیلتر غشائی

٤ـ روش سواب

روشهای تغلیظ

الـف ـ روش محـیط دیاتومـه‌ای: توانـایی فیلتراسـیون محـیط‌هـای دیاتومـه‌ای ممکـن اسـت بـرای تغلـیظ مقـادیر بـالای میکروارگانیـسم‌هـای موجود در یک نمونه استفاده شود.

برای ایـن منظـور یـک فیلتـر جـذب کننـده (نـه فیلتـر غـشائی) را روی قیـف مخـزن فیلتـر غـشایی قـرار داده و قیـف را در جـای خـود وصـل کنیـد و یـک محـیط دیاتومـه‌ای اسـتریل و مناسـب را درون قیـف بطـور آزادانـه قـرار دهیـد. ۲ لیتـر از نمونـه را بـه آهـستگی فیلتـر کنیـد. بعـد از فیلتراسـیون قیـف را بـاز کنیـد و نیمـی از فیلتـر را بـا یـک چـاقوی تیـز اسـتریل جـدا کنیـد و بـه محیط مغـذی مناسـب اضـافه نمائیـد. البتـه مـی‌تـوان تمـام فیلتـر را در محـیط مغذی قرار داد.

ب ـ نمونه‌گیری با حجم بالا

در ایـن روش از یـک فیلتـر کـه جـنس آن از میکـرو فیبرهـای شیـشه‌ای بروسـیلیکات بـه همـراه ترکیبـی از رزیـن اپوکـسی‌اسـت بـرای آزمـایش

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 (۲/۵×۶/۷cm) 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 ـ 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 ٤٢ میلی‌متر و سوراخهای ۰/٤٥ میکرومتر فیلتر می‌کنند. برای آزمایش آبهای کدر یک لیتر محیط معلق دیاتومه‌ای و استریل را بسازید (با آب مقطر و غلظت ٥g/l) و حدود ٥٠٠ 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 پپتونهٔ استریل۱٪ قرار بدهید 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 پپتونه اضافه کنید.

د ـ روش سواب (Swab)

از یک پارچه نخی با عرض ۲۲cm و طول ۳٦cm که ٥ بار تابیده شده تعدادی سواب تهیه کنید (با عرض ٤/٥cm 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 ۱٥ دقیقه در دمای ۱۲۱°C استریل کنید. سواب را زیر سطح آب رودخانه، دریاچه، خورها یا تنگه‌های دریایی به مدت ۳-۱روز قرار دهید (مدت زمان طولانی‌تر تماس سواب موجب افزایش ورود پاتوژنها نخواهد 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 ٦ ساعت است. زمانیکه سواب در محفظه در مجاورت یخ قرار دارد قبل از اینکه سواب را به همراه محیط مغذی در حرارت ٤۱°C-٤۰ انکوباسیون کنید ابتدا محفظه را در آبی با درجه حرارت ٤٤/٥°C به مدت ٥ دقیقه قرار دهید و سپس انکوباسیون کنید.

روش آنالیز پس از تغلیظ نمونه:

ـ غنی‌سازی: روش غنی‌سازی که معمولاً برای تشخیص ویبریوکلرا 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=۸/٦ ± ۰/۲) بکار می‌رود. غلظتهائی از نمونه را به آب پپتونه قلیائی افزوده و برای ٦ تا ۱۸ ساعت انکوباسیون می‌نمائیم.

ـــ محیط کشت انتخابی: برای جداسازی اولیه ویبریوکلرا از TCBS آگار (تیوسولفات، سیترات ـ بایل سالتز (نمک صفراوی) ساکارزآگار) استفاده می‌شود که به مدت ۲٤ ساعت در ۳۵°C انکوباسیون می‌نمائیم کلنی‌های مشکوک ویبریو با رنگ زردی که روی محیط TCBS ایجاد می‌شود قابل تشخیص است.

ـــ پس از انجام مرحله فوق آزمونهای تأییدی شامل واکنشهای بیوشیمیایی و تستهای سرولوژیکی برای تشخیص ویبریوکلرا الزامی است.(۱۷و۱۸)

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

۱۰ـ 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:

ـ تشکیل ستاد وبا

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

ـ هماهنگی با ارگانهای ذیربط در خصوص آموزش، نصب پلاکارد، تابلوهای هشدار دهنده و...

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

ـ انعکاس فعالیت‌ها به مقامات بالاتر و کسب راهنمائی و توصیه‌های لازم برای بهبود عملیات اجرائی و نظارتی

ـ گزارش همه گیری 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.

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

شـــاخص آلـــودگی آب (بـــویژه کلیفـــرم‌هـــا و کلیفـــرهـــای گرمـــا پـــای، اســـترپتوکوکهای مـــدفوعی، کلـــستریدیوم پرفرنـــژنس) و جـــستجوی ویبریوکلرا در آب و آموزش به مردم جهت همکاری و اقدامات لازم

ـــ در صـورت آلـودگی آب بـه فاضـلاب و یـا وجـود ویبریـوکلرا در آب، سـریعاً بایـد مـصرف آب ممنـوع گـردد و تـا رفـع آلـودگی و سـالم شـدن کامل آب، یک منبع آب آشامیدنی سالم و مطمئن جایگزین گردد.

_ ارزیـابی فعالیتهـای انجـام شـده و بـاز نگـری در فعالیتهـا بـا توجـه بـه نتایج ارزیابی .

- مستند سازی فعالیت های انجام شده.

ضمیمه ۱

روش آزمون ویبریوکلرا

در آب آشامیدنی

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

کمیسیون استاندارد آب ـ جستجو و شناسایی ویبریوکلرا

روش آزمون میکروبیولوژی

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

پیشگفتار

آب - جستجو و شناسایی ویبریوکلرا - 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 مآخذی 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[1] 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 ویبروکلرا 01[2] و ویبریوکلرا غیر 01[3] طبقه‌بندی می‌شوند.

ویبریوکلرا 01 دارای دو زیر گروه[4] التور[5] و کلاسیک[6] می‌باشد که نوع التور آن عامل بیماری وبا بوده و با آنتی سرم‌های اینابا[7]، اگاوا[8] و هیکوچیما[9] سروتایپ[10] می‌شوند برخی از سویه‌های ویبریوکلرا 01 آنتروتوکسین[11] 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،

---

[1]- Vibrio cholera

[2]- Vibrio Cholera-01

[3]- Vibrio Cholera-Non 01

[4]- Biotype

[5]- Eltor

[6]- Clasical

[7]- Inaba

[8]- Ogawa

[9]- Hikojima

[10]- Serotype

[11]- Enterotoxin

تـدوین روشـهای آزمـون اسـتاندارد و کنتـرل آن بـویژه در تـصفیه خانـه‌هـا ضرورت دارد.

آب ـ جستجو و شناسایی ویبریوکلرا ـ روش آزمون میکروبیولوژی

۱ـ هدف

هـــدف از تـــدوین ایـــن اســـتاندارد، تعیـــین روش جـــستجو و شناســـایی ویبریوکلرا در آب می‌باشد.

۲ـ دامنه کاربرد

ایـــن اســـتاندارد بـــرای انـــواع مختلـــف آب ماننـــد آب آشـــامیدنی، آب ســـطحی، آب شـــور و شـــیرین، آبهـــای زیرزمینـــی و آب شـــناگاهها کـــاربرد دارد.

۳ـ مراجع الزامی

مدارک الزامـی زیـر حـاوی مقرراتـی اسـت کـه در مـتن ایـن اسـتاندارد بـه آنهـــا ارجـــاع داده شـــده اســـت. بـــدین ترتیـــب آن مقـــررات جزئـــی از ایـــن اســـتاندارد محـــسوب مـــی‌شـــود. در مـــورد مراجـــع دارای تـــاریخ چـــاپ و/ یـــا تجدیـــدنظر، اصـــلاحیه‌هـــا و تجدیـــدنظرهای بعـــدی ایـــن مـــدارک مـــورد نظـــر نیـــست. معهـــذا بهتـــر اســـت کـــاربران ذینفـــع ایـــن اســـتاندارد، امکـــان کـــاربرد آخـــرین اصـــلاحیه‌هـــا و تجدیـــدنظرهای مـــدارک الزامـــی زیـــر را مـــورد بررســـی قـــرار دهنـــد. در مـــورد مراجـــع بـــدون تـــاریخ چـــاپ و/ یـــا تجدیـــدنظر، آخـــرین چاپ و/ یا تجدیدنظر آن مدارک الزامی ارجاع داده شده مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۳ـــ۱ اســـتاندارد ملـــی ایـــران ٤٢٠٨: ســـال ١٣٧٦ آئـــین کـــار نمونـــه‌بـــرداری از آب جهت آزمونهای باکتریولوژیکی

۳ـ۲ استاندارد ملی ایران ۴۲۰۷: سال ۱۳۷۶ آئین کار آزمونهای باکتریولوژیکی آب

۳ـ۳ استاندارد ملی ایران ۲۷۴۷: سال ۱۳۸۰ آئین کار در آزمایشگاه میکروبیولوژی

۴ـ اساس روش

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

۵ـ نمونه‌برداری

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

۶ـ مواد لازم

۶ـ۱ محیط‌های کشت، معروف‌ها و رقیق کننده‌ها

۶ـ۱ـ۱ محیط کشت تیوسولفات ـ سیترات ـ نمک صفراوی ـ 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).

پودر صفرای گاوی	۸ گرم
ساکارز	۲۰ گرم
سدیم کلراید	۱۰ گرم
سیترات آهن (۳ ظرفیتی)	۱ گرم
بروموتیمول آبی	۰/۰٤ گرم
آگار	١٤ گرم
آب مقطر	۱۰۰۰ میلی‌لیتر

طرز تهیه:

ترکیبات فوق را با جوشاندن در آب مقطر حل کنید. PH نهایی محیط باید برابر ۰/۱ ±۸/۸ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس باشد سپس در پلیت‌های سترون تقسیم نموده، پس از خشک نمودن رطوبت اضافی پلیت‌ها، در دمای ٤ درجه سلسیوس به صورت وارونه نگه‌داری کنید. این محیط باید به رنگ آبی متمایل به سبز شفاف باشد.

یادآوری:

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

۶ـ۱ـ۲ آب پپتونه نمکدار قلیایی[۱]

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

[۱]- Alkaline Salted Peptone water

آب مقطر	۱۰۰۰ میلی‌لیتر

طرز تهیه:

ترکیبات فوق را با جوشاندن در آب مقطر حل کنید. PH نهایی محیط باید برابر ۰/۲ ± ۸/٦ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس باشد. سپس در ظروف با گنجایش ۲۵۰ میلی‌لیتری، تقسیم نموده و در اتوکلاو با دمای ۱ ± ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سترون کنید.

۶ـ۱ـ۳ تریپتیک سوی آگار نمکدار[۱]

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

طرز تهیه:

ترکیبات فوق را با جوشاندن در آب مقطر حل کنید. پس از تقسیم در لوله‌های مناسب کشت، در اتوکلاو با دمای ۱ ± ۱۲۱ 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 ۰/۲ ± ۷/۳ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس باشد.

[۱]- Triptic Soy Salted Agar.

۶ـ۱ـ۴ محیط کشت آزمون حرکت[1]

ترکیبات	مقدار
پودر عصاره گوشت	۳ گرم
پپتون	۱۰ گرم
کلرید سدیم	۵ گرم
آگار	٤ گرم
آب مقطر	۱۰۰۰ میلی‌لیتر

طرز تهیه:

ترکیبات فوق را با جوشاندن در آب مقطر حل کنید. سپس در لوله‌های مناسب کشت به حجم‌های ۸ میلی‌لیتری تقسیم نموده و در اتوکلاو با دمای ۱ ± ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سترون کنید. PH محیط پس از سترون شدن باید برابر ۰/۱ ± ۷/٤ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس باشد.

۶ـ۱ـ۵ معرف کواکس[2]

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

طرز تهیه:

---

[1]- Motility test.

[2]- Kovacs reagent.

بنز آلدئید را در آمیل الکل حل نموده، سپس اسید را با احتیاط به آن اضافه کنید. این محلول باید در دمای ٤ درجه سلسیوس و دور از نور نگه‌داری شود.

۶ـ۱ـ۶ معرف اکسیدار[۱]

ترکیب	مقدار
تترامتیل پارافنیل دی آمین ـ هیدروکلراید	۰/۱ گرم
آب مقطر	۱۰ میلی‌لیتر

طرز تهیه:

ترکیب فوق را در آب مقطر حل کنید. محلول بدست آمده را می‌توانید تا یک هفته در دمای ٤ درجه سلسیوس نگه‌داری نمائید.

۶ـ۱ـ۷ آبگوشت تریپتون ـ تریپتوفان[۲]

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

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 تجارتی در دسترس باشد، طبق دستورالعمل سازنده انجام دهید.

۷ وسایل لازم

از وسایل معمول در آزمایشگاه میکروب شناسی طبق استاندارد ملی ۲۷٤۷ سال ۱۳۸۰ آئین کار در آزمایشگاه میکروبیولوژی استفاده کنید.

۸- روش اجرای آزمون

۸ـ۱ تغلیظ به روش صافی غشایی

۳ تا ۵ لیتر نمونه بند ۵ آب را توسط صافی غشایی با اندازه روزنه ۰/٤۵ میکرون طبق استاندارد ملی ٤۲۰۷ صاف کنید.

۸ـ۲ غنی‌سازی نمونه

صافی غشایی بند ۸-۱ را با رعایت شرایط سترونی، در محیط آب پپتونه نمکدار قلیایی بند ٦-۱-۲، غوطه‌ور کنید، سپس در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ٦ تا ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری نمائید.

۸ـ۳ کشت بر روی محیط انتخابی

با استفاده از حلقه کشت سترون، از محیط کشت بند ۸ـ۲ برداشت نموده و بر روی محیط کشت تیوسولفات ـ سیترات ـ نمک صفراوی ـ ساکارز ـ آگاربند ٦ـ۱ـ۱ به صورت خطی کشت دهید. سپس پلیت‌ها را در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ تا ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری نمائید.

۸ـ۴ بررسی پلیت‌ها

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

۸ـ۵ آزمون‌های تائیدی

۸ـ۵ـ۱ جهت آزمون‌های تائیدی لازم است ابتدا کشت جوان (تازه) تهیه نمائید. برای این منظور پنج کلنی زرد رنگ از بند ۸-٤ انتخاب کنید. اندازه کلنی‌ها بهتر است بین یک تا سه میلی‌متر باشد. سپس توسط حلقه کشت سترون بر روی محیط کشت غیرانتخابی مانند تریپتک سوی آگار نمکدار بند ٦ـ۱ـ۳ بصورت خطی کشت دهید. پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲٤ ساعت، آزمون‌های تأییدی را انجام دهید.

۸ـ۵ـ۱ـ۱ آزمون حرکت

توسط حلقه کشت سترون از کلنی بند ۸ـ۵ـ۱ برداشت نموده و بصورت مستقیم تا عمق ۵ میلی‌متری آگار محیط کشت آزمون حرکت بند ٦ـ۱ـ٤ وارد کنید. سپس در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری نمائید. پس از پایان این مدت، چنانچه واکنش مثبت باشد علائم رشد را در اطراف سوزن کشت می‌توانید مشاهده کنید.

آزمون حرکت ویبریوکلرا 01 مثبت است.

یادآوری:

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

۸ـ۵ـ۱ـ۲ آزمون ایندول[1]

توسط حلقه کشت سترون از کلنی بند ۸ـ۵ـ۱ برداشت نموده و بصورت مستقیم تا عمق ۵ میلی‌متری آگار محیط کشت آزمون حرکت بند ٦-۱-٤ وارد کنید. سپس در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به لوله حاوی آبگوشت تریپتون ـ تریپتوفان بند ٦ـ۱ـ۷ تلقیح کنید. سپس لوله‌ها را در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری نمائید.

پس از پایان مدت گرمخانه گذاری، به لوله‌های فوق مقدار ۰/۲ تا ۰/۳ میلی‌لیتر از معرف کواکس بند ٦ـ۱ـ۵ افزوده و مخلوط کنید. تشکیل حلقه قرمز رنگ نشان دهنده واکنش مثبت می‌باشد.

آزمون ایندول ویبریوکلرا 01 مثبت است.

۸ـ۵ـ۱ـ۳ آزمون اکسید از

۲ تا ۳ قطره معرف اکسید از بند ٦ـ۱ـ٦ بر روی کاغذ صافی بریزید. سپس توسط حلقه کشت سترون از کلنی بند ۸ـ۵ـ۱ 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 ویبریوکلرا 01 مثبت است.

۸ـ۵ـ۱ـ۳ آزمون اکسیداز

۲ تا ۳ قطره معرف اکسیداز بند ٦ـ۱ـ٦ بر روی کاغذ صافی بریزید. سپس توسط حلقه کشت سترون از کلنی بند ۸ـ۵ـ۱ 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 درنظر بگیرید.

---

[1]- indol Test.

آزمون اکسیداز ویبراکلرا 01 مثبت است.

۸ـ۵ـ۱ـ۴ آزمون میکروسکوبی

توسط حلقه کشت از کلنی بند ۸ـ۵ـ۱ برداشت نموده و بر روی یک لام تمیز گستره تهیه کنید. پس از ثابت نمودن لام، به روش گرم[1] رنگ آمیزی نموده و توسط میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر و استفاده از روغن سدر بررسی کنید.

ویبریوکلرا 01 باسیل‌های گرم منفی خمیده شکل هستند.

یادآوری:

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

۹ بیان نتایج

با توجه به آزمون‌های تأییدی (طبق بند ۸ـ۵) این استاندارد نتایج را به صورت «ویبریوکلرا 01 در ۳ تا ۵ میلی‌لیتر نمونه آب مشاهده گردید» و یا «ویبریوکلرا 01 در ۳ تا ۵ میلی‌لیتر نمونه آب مشاهده نگردید» بیان کنید.

۱۰ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید دارای آگاهی‌های زیر باشد:

۱۰ـ۱ مشخصات کامل نمونه مانند نوع نمونه، تاریخ و محل نمونه‌برداری، تاریخ ارسال نمونه به آزمایشگاه

۱۰ـ۲ روش آزمون طبق استاندارد ملی...

۱۰ـ۳ بیان نتایج طبق بند ۹ این استاندارد

۱۰ـ٤ سایر اطلاعات که مرتبط با روش آزمون باشد.

---

[1]- Gram.

ضمیمه ۲

کیفیت باکتریولوژیکی آب آشامیدنی (WHO) (۸)

موجودات زنده	مقدار رهنمودی
کلیهٔ آب‌هایی که به مصرف آشامیدن می‌رسند.	
باکتری‌های E.coli یا کلیفرم‌های مقاوم در برابر حرارت ب و ج	نبایستی در هیچ یک از نمونه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتر یافت شوند.
آب تصفیه شده‌ای که وارد سیستم توزیع می‌شود:	
باکتری‌های E.coli با کلیفرم‌های مقاوم در برابر حرارت ب	نبایستی در هیچ یک از نمونه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری یافت شوند.
کل باکتری‌های کلیفرم	نبایستی در هیچ یک از نمونه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری یافت شوند.
آب تصفیه شدهٔ در سیستم توزیع:	
باکتری‌های E.coli با کلیفرم‌های مقاوم به حرارت ب	نباسیتی در هیچ یک از نمونه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری یافت شوند.
کل باکتری‌های کلیفرم	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.

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 نمونهٔ تکرار شده یافت شوند، علت آن می‌بایست به وسیلهٔ 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 تأئیدی 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, Recomen dation. WHO. Jeneva.

٤-حاتمی، حسین و همکاران «اپیدمیولوژی و کنترل بیماریهای شایع در ایران» انتشارات خسروی تهران ـ چاپ اول، ۱۳۸۳

٥-زعیم کهن. حمید، (مترجم) اصول طب داخلی هاریسون، بیماریهای عفونی انتشارات سمارنگ ـ 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، ۱۳۷٥

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- نـدافی، ک، یـزدانبخش.ا.ر، (ترجمـه)، «کنتـرل کیفـی آب آشـامیدنی در اجتماعـات کوچـک»، انتـشارات سـازمان بهداشـت جهـانی، جهـاد دانشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳٦۹

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–واعظـی.ف، صـید محمـدی.ع، «مقـررات گنـدزدائی آب و بهـره‌بـرداری از گندزداها» انتشارات سه استاد، تهران، ۱۳۸۲

۱٦-APHA, AWWA, WEF "Standard Methods for the examination of water & wastewater" USA, 1998

17-WHO, CDS. "Laboratory Methods for the Diagnosis of epidemic Dysentry 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.