

## الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ویبریو کلراهای جدا شده از سواپ رکتال بیماران استان گلستان

### چکیده

**زمینه و هدف:** ویبریو کلرا یکی از عوامل عفونی ایجاد کننده اسهال می باشد که در صورت عدم درمان به موقع و مناسب باعث مرگ و میر می گردد. هدف از این مطالعه تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی ویبریو کلرا های جدا شده از نمونه های بیماران استان گلستان در تابستان ۱۳۸۴ می باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه 95 مورد ویبریو کلرا سرو تایپ *Inaba* جدا شده از بیماران در آزمایشگاههای مراکز بهداشتی استان گلستان، پس از تأیید با آزمونهای رایج میکروشناسی و بیوشیمیایی، برای بررسی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به ۱۲ آنتی بیوتیک رایج در کشور به روش Kirby Bauer مورد بررسی قرار گرفتند. آزمونها به کمک دو فرد جداگانه و هم زمان اجرا گردیدند.

**یافته ها:** میانگین سنی مبتلایان  $29.8 \pm 16$  سال بود. ۵۰ مورد مذکر (۵۲٫۶٪) و ۴۵ مورد مونث (۴۷٫۴٪) بودند. بیشترین حساسیت به دیسکهای آنتی بیوگرام سفوتاکسیم (۹۱٫۶٪)، سفتری زوکسیم (۸۷٫۸٪)، اکسی تتراسیکلین (۷۶٫۱٪) و بیشترین میزان مقاومت نسبت به نالیدیکسیک اسید (۸۴٫۵٪)، اریترومایسین (۵۰٫۷٪)، فورازولیدون (۵۰٫۷٪) مشاهده گردید. میزان مقاومت دارویی با گذشت زمان در طول اپیدمی افزایش نیافته است. بیشترین توافق بین جوابهای گزارش شده از دو فرد در دیسکهای آمپی سیلین، تتراسیکلین و نالیدیکسیک اسید مشاهده گردید (کاپا بترتیب ۹۴٪ و ۸۹٪ و ۸۲٪  $P < 0.05$ ) و کمترین توافق بین دو گزارش در دیسکهای اریترومایسین و فورازولیدون مشاهده گردید. (کاپا بترتیب ۶۷٪ و  $P < 0.05$ )

**نتیجه گیری:** با توجه به مشاهده مقاومت ویبریو کلرا به بعضی از آنتی بیوتیکها، تعیین الگوی حساسیت یا مقاومت دارویی سوبیه ها برای درمان کامل و جلوگیری از گسترش گونه های مقاوم به دارو ضروری می باشد.

**واژه های کلیدی:** ویبریو کلرا، اینابا، مقاومت آنتی بیوتیکی، گلستان

### فرهاد نیک نژاد

کارشناس ارشد قارچ شناسی دانشکده پیرا پزشکی و بهداشت دانشگاه علوم پزشکی گلستان

### محمد جواد کبیر

کارشناس ارشد مدیریت خدمات درمان بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

### عباسعلی کشتکار

استادیار گروه پزشکی اجتماعی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

### بهمن حضرتی

متخصص پاتولوژی، معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

### نورعلی کردجی

کارشناس علوم آزمایشگاهی، معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

### ایزد رضاییان

کارشناس علوم آزمایشگاهی، معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

### عبدالحمید انگیزه

کارشناس مبارزه با بیماریها، معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

نویسنده مسئول: فرهاد نیک نژاد

تلفن: ۰۹۱۱۲۷۵۸۸۰۱

پست الکترونیک:

[Fniknezhad@yahoo.com](mailto:Fniknezhad@yahoo.com)

آدرس: دانشکده پیرا پزشکی و بهداشت

دانشگاه علوم پزشکی گلستان

وصول مقاله: ۸۶/۵/۲

اصلاح نهایی: ۸۶/۹/۳

پذیرش مقاله: ۸۶/۹/۱۸

نالیدیکسیک اسید بود .

### روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی بوده و بر روی کلیه سوشهای ویبریو کلرا جدا شده از شهرستانهای استان گلستان در اپیدمی تابستان ۱۳۸۴ اجرا شده است. کلیه سوشهای گزارش شده ویبریو کلرا از آزمایشگاههای مراکز بهداشتی استان برای تایید به آزمایشگاه مرکز بهداشت استان گلستان ارسال گردید. در آزمایشگاه مرکز بهداشت استان بر روی سوشهای ارسالی آزمونهای تکمیلی مانند اکسیداز، تخمیر قندها، بررسی حرکت و بی حرکت شدن باکتری با آنتی سرم پلی والانت، بررسی اندول، آزمون استرینگ با دزوکیسی کولات سدیم نیم درصد، آگلوتیناسیون با آنتی سرم اینابا و در صورت نیاز با سایر آزمونهای تشخیصی تایید گردید (۷).

سپس نمونه ها پس از پاساژ و رشد در محیط های کشت مناسب مانند (TSB گلسیروله) Trypticase soy broth+Glycerol و نوترینت آگار در فریزر ۲۰- تا زمان اجرای آزمونهای حساسیت دارویی نگهداری گردید. آزمونهای حساسیت به آنتی بیوتیکها (آنتی بیوگرام) با استفاده از روش استاندارد Disk-Diffusion اجرا شد. الگوی حساسیت سوشها با ۱۲ دیسک آنتی بیوگرام: تتراسیکلین (TE)، اکسی تتراسیکلین (T)، اریترومايسين (E)، نیتروفورانتوین (FM)، فورازولیدون (Fr)، سفتری زوکسیم (CT)، آمپی سیلین (AM)، کوتریموکسازول (SXT)، کلرامفنیکل (C)، سفوتا کسیم (CTX)، داکسی سایکلین (D) و نالیدیکسیک اسید (NA) مورد بررسی قرار گرفتند.

تعداد ۴-۵ کلنی باکتری در آبگوشت مناسب تلقیح شده و پس از انکوباسیون در ۳۵ درجه سانتی گراد با کدورت شاهد نیم مک فارلند تنظیم شد. سپس به کمک سوپ استریل از سوپانسیون فوق بر روی محیط مولر هینتون آگار به طور یکنواخت در کل پلیت تلقیح کرده و دیسکهای آنتی بیوتیک مورد نظر به کمک پنس استریل در سطح پلیت قرار داده شد. قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسکها پس از ۱۶-۱۸ ساعت انکوباسیون در ۳۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد و با توجه به جداول NCCLS که شرکت سازنده دیسکها (پادتن طب) ارائه کرده بود، قطر هاله دیسکها مورد بررسی قرار گرفت. آزمونها به کمک دو فرد A و B به طور جدا و به صورت دوپلیکیت اجرا گردیدند.

اسهال از بیماریهای عمده و عامل مهم مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه و به خصوص در کودکان زیر ۵ سال است (۱). سالانه ۳ تا ۵ بلیون نفر به این بیماری مبتلا می شوند که با ۵ تا ۱۰ میلیون مرگ در سال همراه است (۲). ویبریو کلرا یکی از عوامل عفونی ایجاد کننده اسهال می باشد. باکتری ویبریو کلرا از جنس ویبریو و متعلق به خانواده ویبریو ناسه می باشد که تاکنون ۲۸ گونه از آن شناسایی شده است. این باکتری عامل بیماری مهلک وبا (cholera) در انسان است و به صورت تک گیر، همه گیر و عالم گیر دیده می شود. باکتری گرم منفی و بدون اسپور بوده و واجد یک فلاژل قطبی است. این باکتری بیهوازی اختیاری است و در PH(7-9) خوب رشد می کند. این میکرو ارگانیسم به دو بیوتیپ التور و کلاسیک تقسیم شده و از نظر ساختمان آنتی ژنیکی نیز به ۳ سروتیپ اوگاوا، اینابا و هیکو جیما نامگذاری می گردد. وبا بیماری مختص انسان بوده و تاکنون باعث ۷ پاندمی شده که نتیجه آن هزاران مرگ و میر و تغییرات بزرگ اجتماعی و اقتصادی بوده است (۳).

شروع بیماری ناگهانی و با اسهال و استفراغ شدید همراه است که گاه حتی طی مدت ۳ تا ۴ ساعت باعث مرگ بیمار می شود. به علت مجاور بودن ایران با کشورهای آسیایی مانند پاکستان و افغانستان که بیماری در آنجا آندمیک بومی است در کشور ما نیز همواره مواردی از این بیماری گزارش می گردد (۴). شایعترین راه انتقال آلوده شدن آب آشامیدنی به مدفوع انسانی آلوده است. تعداد باکتری لازم برای ایجاد بیماری نسبتاً زیاد است. باکتری پس از بلع در روده باریک کولونیزه شده و آنتروتوکسین تولید و ترشح نموده که عامل اصلی ایجاد اسهال آبکی است.

علائم بیماری معمولاً بعد از دوره نهفتگی ۲-۱ روزه با حمله ناگهانی اسهال آبکی آغاز می گردد (۵). درمان اصلی در اسهال شامل جایگزینی آب و الکترولیتها و در صورت نیاز آنتی بیوتیکها می باشد. عدم استفاده صحیح از آنتی بیوتیکها نه تنها درمان بیماران را با مشکل روبرو می کند بلکه باید انتظار ظهور سوشهای مقاوم به درمان را داشت (۶).

هدف اصلی این تحقیق تعیین الگوی حساسیتی ویبریو کلراهای جدا شده از بیماران نسبت به آنتی بیوتیکهای رایج مانند تتراسیکلین، اکسی تتراسیکلین، اریترومايسين، نیتروفورانتوین، فورازولیدون، سفتری زوکسیم، آمپی سیلین، تری متوپریم، سولفومتاکسازول، کلرامفنیکل، سفوتا کسیم، داکسی سایکلین و

ار آنالیز بقای توصیفی (روش کاپلان مایر) برای ارزیابی تغییرات روند مقاومت یا حساسیت میکروبی در طول زمان با فاصله اطمینان ۹۵٪ استفاده گردید.

### یافته ها

در این مطالعه ۹۵ سوش ویبریو کلرا سروتیپ اینابا که از بیماران استان گلستان جدا شده بودند، پس از تایید و تکمیل پرسشنامه وارد مطالعه گردیدند. میانگین سنی مبتلایان  $29.8 \pm 16$  سال بود. ۵۰ مورد مذکر (۵۲٫۶٪) و ۴۵ مورد مونث (۴۷٫۴٪) بودند. ۴۸٫۹٪ در مناطق شهری و ۵۱٫۱٪ در مناطق روستایی زندگی می کردند. ۵۷٪ مبتلایان فارس بومی ۲۲٫۱٪ ترکمن، ۱۴٪ سیستانی، ۵٫۸٪ افغانی و بقیه از قومیت‌های دیگر بودند. بیشترین موارد گزارش شده از شهرستانهای گرگان و گنبد به ترتیب ۳۹ و ۲۱ مورد بوده است که یک مورد منجر به مرگ شده بود. بین جنسیت و میزان مقاومت میکروبی رابطه معنی داری مشاهده نگردید. میزان مقاومت دارویی در سیستمها بیشتر از بقیه بود (۲۲٫۲٪).

میزان حساسیت به دیسکهای آنتی بیوتیکی، و تعداد موارد توافقی بین گزارش های فرد A و B در جدول شماره ۱ آورده

نتیجه تست	درصد حساسیت و مقاومت سویه ها*		میزان توافق در نتایج	
	حساس	مقاوم	درصد	کاپا
نوع آنتی بیوتیک				
داکسی سایکلین	74	15.9	84	0.70
تتراسیکلین	70.7	18.5	94	0.89
کو تریمو کسازول	59.8	36.6	84	0.73
اریترومایسین	20	50.7	78	0.67
آمپی سیلین	50.5	45.2	97	0.94
فوزازولیدون	48	50.7	78	0.62
سفتی زوکسیم	87.8	6.1	84	0.58
نیتروفورا تتوین	63.2	35.6	90	0.80
اکسی تتراسیکلین	76.1	15.9	91	0.79
کلرامفنیکل	55.7	39.8	91	0.84
نایدیکسیک اسید	9.5	84.5	94	0.82
سفو تا کسیم	91.6	2.4	86	0.48

شده است.

جدول ۱: میانگین غلظت هوموسیتین، ویتامین B<sub>12</sub> و فولات در گروه

مورد و شاهد بر حسب جنس

\* بقیه سویه ها حساسیت نسبی داشته اند

P Value در تمامی موارد کمتر از ۰٫۰۵ برآورد گردید

### بحث

بیماری وبا هر چند سال یک بار در کشور ما به صورت اپیدمی بروز می کند. در این مطالعه ۹۵ سوش ویبریو کلرا اینابا که با آزمونهای تکمیلی مورد تایید قرار گرفته بودند، بررسی شدند. طی ۳۰ سال گذشته، تتراسایکلین به عنوان داروی انتخابی برای درمان ویبریو کلرا به کار می رفته و به مرور زمان مقاومت به این دارو گسترش جهانی پیدا کرده است که این مقاومت کاملاً نوسان پذیر است (۱۶).

آنتی بیوتیکها نقش دوم و ثانویه را در درمان بیماران مبتلا به وبا ایفا می کنند و عمدتاً در بیمارانی که دچار دهیدراتاسیون شدید می شوند از آن استفاده می کنند تا دوره و شدت بیماری را کاهش دهند. مصرف آنتی بیوتیک می تواند از اشاعه میکروب در جامعه نیز جلوگیری کرده میزان گسترش اپیدمی را مهار نماید. در این حال مصرف خوراکی داکسی سیکلین و تتراسایکلین نیز تجویز می شود.

در این مطالعه حدود ۷۱٪ از سویه های ویبریو کلرا به تتراسایکلین و ۷۴٪ به داکسی سیکلین حساسیت نشان می دهند در حالی که پور شفیق و همکاران در سال ۱۳۷۷ نشان دادند بیش از ۸۶٪ و ۶۱٪ سویه ای ویبریو کلرا در تهران به ترتیب نسبت به داکسی سیکلین و تتراسایکلین مقاومند (۱۰). گزارش صداقت در سال ۱۳۸۴ نیز مقاومت بالایی را نسبت به تتراسایکلین نشان می دهد (۹) ولی افضلی هیچ مقاومتی را نسبت به این دو دارو در کاشان طی سالهای ۷۸-۷۹ گزارش نکرده است و نشان داده است که تنها ۸/۳٪ نسبت به داکسی سیکلین و ۲۰/۸٪ نسبت به تتراسایکلین حساسیت نسبی دارند (۱).

مطالعه کرامت در همدان در سال ۱۳۸۴ نیز حساسیت ۷۷٪ و ۶۷٪ را نسبت به این دارو نشان می دهد (۸).

این نتایج متناقض ممکن است به علت تنوع سویه های ویبریو کلرا O<sub>1</sub> جدا شده از مناطق مختلف باشد که در این صورت نشان می دهد در استان گلستان هنوز سویه های عامل بیماری وبا به داکسی سیکلین حساسیت قابل قبولی دارند و می توان از این دارو در موارد لزوم برای درمان بیماران استفاده نمود. از طرف دیگر این مسئله ممکن است نشانگر مشکلات در تکنیکهای آزمایشگاهی و عدم به کارگیری استاندارد یکسان در میان محققین مختلف باشد؛ در این صورت ضروری است که آزمایشگاه رفرنس و آزمایشگاه

مسئله دیگر، پاسخ بالینی بیمار است که باید در طول درمان مد نظر قرار گیرد. این مسئله می تواند همانند آنتی بیوگرام مهم باشد (۱۴). جهش دائمی یکی از ویژگیهای میکروارگانیسمها می باشد و این مسئله در موارد شیوع همه گیری که تعداد باکتری و انتقال آن بین بیماران زیادتر است بسیار جدی است، در نتیجه بعضی از این جهشها سویه های جدیدی با ویژگیهای نوین به وجود می آید که ممکن است از نظر عوامل بیماری زایی، راههای انتقال، تظاهرات و عوارض بیماری و حتی حساسیت آنتی بیوتیکی نسبت به سویه های والد متفاوت باشند و این بر ضرورت بررسیهای کلینیکی و پاراکلینیکی دلالت می کند (۱۵).

گزارشهای متفاوت از سراسر کشور طی اپیدمیهای مختلف حاکی از عدم پیروی الگوی یکسان در روند آنتی بیوگرام است که اهمیت و ضرورت اجرای آزمونهای دارویی بیش از پیش احساس می گردد و نمی توان یک نسخه واحدی برای پروتکل درمانی در کل کشور تجویز نمود.

به طوری که حتی در مطالعه اخیر ما در استان گلستان، میزان مقاومت دارویی در نژاد سیستانی بیشتر از سایرین بود (۲، ۲۲٪). با توجه به تغییرات نسبتاً گسترده گزارش شده در سایر بررسیهای کشور و مشاهده روز افزون مقاومت به برخی از آنتی بیوتیکها و تغییرات گسترده طیف اثربخشی نسبت به داروها و برای جلوگیری از افزایش موارد مقاوم به دارو، ضرورت اجرای آزمونهای حساسیت دارویی در هنگام اپیدمی بیش از پیش احساس می گردد.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان اجرا شده است. همچنین از زحمات کلیه عزیزانی که ما را در اجرای این پژوهش یاری کردند، به ویژه آقای دکتر حمید رضا جوشقانی مدیر محترم گروه علوم آزمایشگاهی برای بازخوانی مقاله قدردانی می گردد.

سلامت کشور و بویژه انجمن میکروبیشناسی ایران بر این مسئله توجه بیشتری معطوف دارند.

در این مطالعه ما نتایج را بر اساس مطالعه همزمان دو محقق به صورت جداگانه بدست آوردیم و نشان دادیم که درصد توافق نتایج حتی در یک آزمایشگاه و در حالی که از یک محیط کشت و پروتکل استفاده می شود از ۷۸٪ - ۹۷٪ متغیر است که بالاترین میزان تطابق در آمپی سیلین، تتراساکلین و نالیدیکسیک اسید (کاپا ۹۴٪، ۸۹ و ۸۲٪) و کمترین آن در بررسی حساسیت به اریترومايسين و فورازوليدون بوده است (کاپا ۶۷٪ و ۶۲٪).

کنترل کیفی محیطهای کشت و دیسکهای آنتی بیوگرام از مرحله تولید، نگهداری، انتقال و انبارداری تا زمان مصرف در آزمایشگاه، می تواند در کاهش موارد خطا در نتایج آنتی بیوگرام موثر باشد.

نتایج حاصل از آنتی بیوگرام بیماران مبتلا به ویبریو کلرا نشان می دهد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکهای نالیدیکسیک اسید و اریترومايسين و فورازوليدون به ترتیب ۸۴/۵ و ۵۰/۷ و ۵۰/۷ و بیشترین حساسیت نسبت به سفوتاکسیم و سفنی زوکسیم به ترتیب ۹۱/۶ و ۸۷/۸ گزارش شده است. حساسیت سویه ها به این داروی نسل سوم سفالوسپورینها، امکان استفاده از آنها را در صورتی که بروز مقاومت به داکسی سیکلین افزایش یابد مطرح می کند.

صداقت در سال ۱۳۸۴ در بررسی بر روی ۱۱۶ نمونه ارسالی از سراسر کشور میزان مقاومت به کلرامفنیکل، کوتریموکسازول، استرپتومايسين، آمپی سیلین، تتراسایکلین، اریترومايسين را به ترتیب ۹۲، ۸۹، ۹۲/۵، ۹۴، ۹۷، ۱۰۰ درصد گزارش کرده است. (۹) در مطالعه ای که بین سالهای ۱۹۹۱ تا ۱۹۹۴ در آنگولا اجرا شد، مقاومت آنتی بیوتیکی چند گانه ویبریو التور به کلرامفنیکل، تتراسایکلین، کوتریموکسازول و اریترومايسين مشاهده شده است که چه بسا یکی از عوامل مهم پایداری و ثبات اپیدمی در طی ۴ سال، وجود مقاومت چند گانه آنتی بیوتیکی باشد (۱۱).

گزارشهای دیگری نیز مبنی بر ایجاد مقاومت چند گانه آنتی بیوتیکی ویبریو کلرا به کلرامفنیکل، اریترومايسين، کانامایسین، تتراسایکلین و کوتریموکسازول ارائه شده است (۱۲).

در سال ۱۹۹۴ نیز تحقیقی در ایتالیا بر روی ۱۲ مورد بیمار وبایی اجرا شده در این تحقیق هم همگی آنها به تتراسایکلین و کوتریموکسازول مقاوم بودند ولی به سیپروفلوکساسین حساس بودند (۱۳).

## References

- ۱) افضلی ح. بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی شیگلا، سالمونلا-ویبریوکلرا کشت داده شده از مدفوع بیماران مبتلا به اسهال حاد مراجعه کننده به آزمایشگاه رفرانس کاشان در سال ۷۹-۷۸. فصلنامه علمی پژوهشی فیض پائیز ۱۳۸۰-شماره ۱۹.
- 2) Ress E, Husk F. *Gastrointestinal and intra abdominal infections in: Ross E, Belts F.A Practical Approach to infectious Disease, 4 the Ed, Little Brown. 1996; 380-1.*
- 3) Ansaruzzaman M, Bhuiyan NA, Nair BG, Sack DA, Lucas M, Deen JL, et al; *The Mozambique Cholera vaccine Demonstration Project Coordination Group. Cholera in Mozambique, variant of Vibrio cholerae. Emerg Infect Dis. 2004 ;10(11):2057-99.*
- 4) Pourshafie MR, Grimont F, Saifi M, Grimont PA. *Molecular epidemiological study of Vibrio cholerae isolates from infected patients in Teheran, Iran. J Med Microbiol. 2000 ;49(12):1085-90.*
- 5) Fauci B, Issbacher C. *Harrison's principles of internal medicine, New York, 1998; 943-962.*
- 6) Urassa WK, Mhando YB, Mhalu FS, Mjonga SJ. *Antimicrobial susceptibility pattern of Vibrio cholerae O1 strains during two cholera outbreaks in Dar es Salaam, Tanzania. East Afr Med J 2000 ;77(7):350-3.*
- 7) Bidinost C and Saka H.A. *Virulence factors of non-o1, non o139 V.cholerae isolated in Cordoba, Argentina. Revista Argentina de Microbiologia. 2004; 36:158-163.*
- ۸) کرامت ف، ممانی م، هاشمی ح، رنجبر م، اجمالیان س، زراعی قانع ز. بررسی آنتی بیوگرام ویبریو کلرا در ۶۰ بیمار مبتلا به وبا در اپیدمی سال ۱۳۸۴ و مقایسه آن با اپیدمی وبا در سال ۱۳۷۷ در همان . چهاردهمین کنگره بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران. آذر ۱۳۸۴
- ۹) صداقت م، پرزده م، رئیسی ج و پورشفیغ م ر. شناسایی مولکولی و بررسی تغییرات مقاومت آنتی بیوتیکی و سروتایپینگ بیماری وبادر تابستان ۱۳۸۴ در ایران . چهاردهمین کنگره بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران. آذر ۱۳۸۴
- ۱۰) پورشفیغ م، وحدانی پ، سیفی م، نخست لطفی م، صداقت م . سنجش مقاومت آنتی بیوتیکی ویبریو کلراهای جدا شده از نمونه های مدفوع در تابستان ۱۳۷۷ در تهران. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد، ۱۳۸۰؛ دوره ۹، شماره ۲: صفحات ۳۳-۲۹.
- 11) Alm RA, Stroehner UH, Manning PA. *Extracellular proteins of Vibrio cholerae: nucleotide sequence of the structural gene (hlyA) for the haemolysin of the haemolytic El Tor strain 017 and characterization of the hlyA mutation in the non-haemolytic classical strain 569B. Mol Microbiol. 1988 ;2(4):481-8.*
- 12) Nagamune K, Yamamoto K, Honda T. *Intramolecular chaperone activity of the pro-region of Vibrio cholerae El Tor cytolysin. J Biol Chem. 1997 ;10:272(2):1338-4.*
- 13) Irma N and chung J. *Genotypes associated with virulence in environmental Isolates of vibrio cholerae, Applied and Environ Microbiology. 1988; 67(6):2421-2429.*
- 14) Materu SF, Lema OE, Mukunza HM, Adhiambo CG, Carter JY. *Antibiotic resistance pattern of Vibrio cholerae and Shigella causing diarrhoea outbreaks in the eastern Africa region: 1994-1996. East Afr Med J. 1997; 74(3):193-7.*
- 15) Seas C & Gotuzz E. *Principles and practice of infections disease. 5 th Ed. Churchill Livung stone. 2000;2266-2271.*
- ۱۶) صداقت م، سلطان س، پورشفیغ م و همکاران. ژن بیماریزای hlyA تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی در ۱۰۰ نمونه بیمار مبتلا به وبا. مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی. ۱۳۸۵؛ دوره ۴ شماره ۳: صفحات ۶۰-۵۳