

مروری بر وبا در پانزده سال اخیر

دکتر پرویز ادیب‌فر

سالها کاستی یا فزونی میگیرد و یا اصولاً در یک منطقه ریشه‌کن میشود.

در بعضی موارد هم مشاهده میکنیم که بیماری تغییر شکل داده است ولی بهرحال وبا آنطور که در فرهنگها آمده کلمه عربی است با الف ممدوده که بصورت وباء تلفظ میشود، برای نمونه در صراح‌اللغة به ترجمه ابوالفضل محمد بن عمرخالد که این ترجمه در سال ۶۸۱ هجری قمری بعمل آمده کلمه وبا اینطور معنی شده است "بیماری عام که آنرا مرگامرگی میگویند" این تعبیر مرگامرگی بنظر میرسد بهترین تعبیر از وبا و همهگیری وحشتناک آن در سالهای گذشته بوده است. فرهنگ لغات طبی دیگری میشناسیم که در سال ۹۳۸ هجری قمری بنام بحرالخواهر تألیف شده، در این کتاب در باره وبا نوشته‌اند "فساد هوا که باعث بعضی از بیماریهای جسم میشود" و میگویند که این بیماریها ترکیبی است از اثرات آسمانی و زمینی و گفته‌اند که این بیماری همان طاعون است و بهرحال مرضی است همهگیر (توضیح اینکه وبا و طاعون کاملاً" اختلاف دارند و وجه تشابه آنها با یکدیگر در کتابهای گذشتگان مسلمان "بعلت همهگیری و مرگامرگی آن دو است). اما در فاصله بین سال ۶۸۱ هجری قمری یعنی سال

وبا، نام آشنا و همزاد مشرق زمین است، چه، پیوسته ایام وبا به تبع از کیفیت علم پزشکی توانسته است به‌گونه‌ای خود را جزئی از تاریخ پزشکی مشرق زمین جلوه دهد. در این زمینه تاریخ و اسطوره‌ها خود گواه صادقی است از استمرار این بیماری و مالا" وحشت انسانها از آن.

شکی نیست عالمان پزشکی با تلاش و کوشش خویش در تمامی ادوار در جدال با این پدیده زشت طبیعت بوده‌اند. در هر برهه‌ای از زمان بنوعی توفیق یافته‌اند که دامنه‌های وسیع اپیدمی را هرچه ممکن است کم و کمتر نمایند.

خوشبختانه در سالهای اخیر با توجه به‌بالندگی وسیع کشفیات پزشکی این بیماری خاصه در کشور ما در پرتو تلاش طبییان و اندیشمندان علوم پزشکی در حیطة امحاء قرار گرفته و در این طریق به شیوه‌های گوناگونی دست آزرده‌اند و اینک در مقاله زیر نکاتی چند راجع به بررسی وبا در پانزده سال اخیر برای آگاهی بیشتر همکاران گرامی تقدیم میشود.

بطور کلی گرچه کشفیات نوین است برعکس بیماریها همیشه کهن است. منتهی با شناخت عوامل محیط و تغییر سطح بهداشت جوامع، بیماریهای مختلف در طول قرن‌ها و

شکل مدفوعی را از دست داده و بصورت مایع خاکستری و کدروی شبیه آب برنج درمیآید. حجم کلی مایعات که دفع میشود ممکن است به ۱۵ لیتر در شبانهروز برسد. علاوه بر اسهال و استفراغ کم شدن درجه حرارت بدن، از بین رفتن آب و املاح، غلیظ شدن خون و کیودی پوست، انقباض دردناک عضلات، فشار خون پائین، کاهش حجم ادرار، دهان خشک، چشمهای فرو رفته و پوست چروکیده از علائم دیگر بیماری است.

دوره بیماری در اشکال درمان نشده بطور متوسط ۲-۵ روز طول میکشد. پیش‌آگهی بستگی به وضع سلامتی قبلی بیمار و درمان‌های انجام شده دارد. میزان مرگ و میر در اشکال معالجه نشده در حدود ۵۰٪ است و با درمان فوری و صحیح میتوان میزان مرگ و میر را در بالغین به کمتر از ۱٪ و در اطفال به ۳٪ رساند.

عامل این بیماری را اولین بار ربرت کخ (۱۳) دانشمند بزرگ آلمانی در سال ۱۸۸۳ هنگامیکه همه‌گیری وبا در مصر وجود داشت کشف نمود و سال بعد نیز همان میکرب را از مدفوع بیماران مبتلا به وبا در هندوستان بدست آورد و بدینگونه معلوم ساخت که این هر دو یکی بیش نیست. عامل این بیماری باکتری گرم منفی، خمیده بشکل ویرگول بطول ۲ تا ۳ میکرو می باشد. این باکتری متحرک بوده ولی کپسول و اسپر ندارد بطور کلی ویبریونها همه دارای یکنوع آنتی‌ژن H میباشند ولی در آنتی‌ژن O با یکدیگر اختلاف دارند و به شش گروه تقسیم میشوند که فقط گروه ۱ را ویبریون عامل وبا بحساب می‌آورند. گروه ۱ از دو نوع ویبریون تشکیل شده است یکی ویبریولکله و دیگری ویبریون‌التور، این گروه از روی اختلاف مختصری که در ساختمان آنتی‌ژن O آنها موجود است به ۳ تیپ اینابا Inaba، اگاوا Ogawa و هیکوجیما Hikojima تقسیم شده‌اند. ویبریولکله و التور از نظر فیزیکی و بیوشیمیائی نیز دارای اختلافاتی میباشند.

از قدیمیترین زمانها مردم با بیماری وبای حقیقی یا کلاسیک که بارها بصورت عالمگیر درآمده و زیانهای جبران‌ناپذیری بوجود آورده است آشنا بوده‌اند. این بیماری همیشه از آسیا به دیگر قاره‌های جهان سرایت کرده و بطور کلی

ترجمه صراح و سال ۹۳۸ هجری قمری که سال تألیف بحرالجواهر است حاجی خلیفه صاحب دائره‌المعارف معروف کشف الظنون از یوسف بن حسن متوفی بسال ۸۸۰ هجری یاد میکند و می‌نویسد که این مرد حکیم کتابی دارد بنام فنون المنون فی الوباء والطاعون، مرحوم علامه علی‌اکبر دهخدا در حاشیه کشف‌الظنون یادداشتی دارد که رهگشای خوبی برای پی‌بردن بکاربرد صحیح این واژه در طول تاریخ است.

مرحوم علامه در حاشیه نوشته‌اند "ظاهراً" کلمه وبا در نام این کتاب بمعنی امروزی "کلرا" آمده است و اگر چنین است معلوم میشود که اقلاً در اواخر سده هشتم و اوائل سده نهم این کلمه باین بیماری اطلاق میشده است."

بنظر میرسد در همین دوره از تاریخ پزشکی ایران است که اطباء با تجربه‌های فراوان متوجه این بیماری شده و توانسته‌اند معنی آنرا بطوری محدود سازند که بصورت بیماری تلقی شود.

بدبختانه در طول سالها مردم نه تنها در ایران بلکه در تمام دنیا بخصوص سرزمینهای مشرق گمان میکردند که وبا بیماری آسمانی و بلای سماوی است که خداوند هرگاه بر بندگان گناهکار خود خشم آورد این بلا را بر آنان نازل میدارد تا با بنیانکن شدن فاسد، فساد از میان مردم رخت بریندد. حتی گروهی عقیده داشتند که نگریستن به یاقوت، لمس آن با زبان، و خوردن سوده آن دفع بیماری وبا میکند، در این زمینه حکیم نظامی گنجوی میگوید.

دل راست کن از بلا میندیش یاقوت خور از وبا میندیش وبا بیماری عفونی و مسری است که بصورت‌های تک‌گیر، همه‌گیر و عالمگیر دیده میشود. انتشار بیماری بعلت آلوده شدن اغذیه یا مایعات به مدفوع بیماران، افراد سالم حامل میکرب بیماری صورت میگیرد. دوره نهفتگی این بیماری برحسب مقاومت طبیعی بیمار و قدرت بیماریزائی میکرب از یک تا پنج روز است. هرچند ممکن است اشکال بالینی خفیف با اسهال ساده نیز وجود داشته باشد ولی معمولاً شروع بیماری ناگهانی وبا اسهال و استفراغ شدید همراه است.

اسهال آبکی با حجم زیاد و تکرر فراوان که بسرعت

تا سال ۱۹۲۳ جمعا ۶ بار سراسر جهان را مورد حمله قرار داده است.

از سال ۱۹۲۳ تا سال ۱۹۶۱ خوشبختانه بصورت عالمگیر مشاهده نشده است ولی کانونهای بیماری از بین نرفته بلکه بصورت موجی از هندوستان بسایر نقاط دنیا سرایت کرده و سبب اپیدمی‌های متعدد در ممالک همجوار گردیده است. از سال ۱۹۶۱ بعد است که همهجا و در کلیه مقالات با کلمه الطور (Eltor) مواجه میشویم، باید دانست در فرهنگهای جغرافیائی و دائره‌المعارفها بنام دوطور برمیخوریم.

۱- طور کوهی است در شبه‌جزیره سینا که موسی علیه‌السلام در آن مناجات مینمود و نور الهی را در آنجا مشاهده کرد و به آن جبل طور و طور سینا هم میگویند.

۲- طور نام کوهی است مشرف بر طبریه اردن، بهرحال کلمه Eltor صورت اروپائی الطور است که الف و لام شمسی آن به قمری تعبیر شده و در تلفظ بصورت التور درآمده است.

در ضمن التور نام قرنطینه و سازمان بهداشتی منظم و مجهزی است که در ساحل بحر احمر بنا شده و مخصوص بررسی وضع مزاجی حاجیانی است که از زیارت خانه خدا برمیگردند و بممالک افریقائی و احیانا اروپا مراجعت مینمایند و چون اولین بار در سال ۱۹۰۶ گوجلش Gotschich^(۱۰) از اجساد بعضی از زائران خانه خدا که بعلت وبا نمرده بودند این میکرب را بدست آورد و خواص آنرا که شبیه ویبریون وبا بوده مطالعه نمود از این رو این تبی بنام التور نامیده شد.

ویبریون التور از بیماران، ناقلین در دوره نقاهت، ناقلین سالم و از منابع آب آشامیدنی بدست آمده است و بنظر نمیرسد که بیماری خطرناکی در انسان ایجاد نماید ولی گزارشهای متعددی داده شده بود که بیماری بطور تکثیر در شمال اندونزی وجود داشته است و تا سال ۱۹۶۱ بنواحی دوردست گسترش نیافته بود ولی در آن سال از ناحیه خود بیرون آمده و به نواحی جنوب شرقی آسیا منتشر گردید و بتدریج بسمت غرب و شرق انتشار یافت و بصورت عالمگیر درآمد و از اینرو بود که دانشمندان خود را در مقابل

بیوتیپ تازه‌ای یافتند و دوره جدیدی در همه‌گیری شناسی این بیماری پدید آمد و باعث شد که سازمان بهداشت جهانی در تصمیم خود که در سال ۱۹۵۸ گرفته بود تجدیدنظر نماید، آن تصمیم حاکی از آن بود که بیماری حاصله از ویبریواتور را بعنوان کلرا تلقی ننمایند و بدین ترتیب در سال ۱۹۶۲ این بیماری مانند کلرا تلقی شد و توصیه گردید کلیه اعمالی که برای وبای کلاسیک در نظر میگیرند برای وبای التور نیز باید در نظر گرفته شود. از طرف دیگر کخ Koch^(۱۳) و کراس Krous^(۱۴) متوجه شده بودند در طبیعت تعداد بیشماری ویبریون یافت میشود که بیماریزا نبوده ولی دارای خاصیت همولیز دهنده گلوبولهای قرمز بز و گوسفند هستند در حالی که ویبریون حقیقی عامل وبای آسیائی فاقد این خصیصه است و بهمین سبب پیشنهاد شده بود از این خاصیت برای تشخیص افتراقی ویبریون حقیقی از سایر ویبریونهای غیر بیماریزا استفاده شود و چون ویبریواتور نیز دارای خاصیت همولیزدهنده بود جهت تشخیص ویبریواتور از ویبریون کلاسیک نیز از این خاصیت استفاده مینمودند گریک Greig^(۱۱) سال ۱۹۱۴ پس از مطالعه در نقاط مختلف جهان مشاهده شد که اکثر موارد ویبریواتور که عامل عالمگیری اخیر میباشد فاقد خاصیت همولیز دهنده است. (۲)

بدین جهت دانشمندان و محققین در صدد برآمدند در این رشته تحقیق بیشتری نمایند چون مواجه با بیوتیپ تازه‌ای شده بودند که دارای خاصیت التور ولی فاقد خاصیت همولیتیک بوده و کاملا با ویبریواتور یکی نبوده است.

روی این اصل اختلاف سلیقه بین دانشمندان پدید آمد و هر دسته طرفدارانی پیدا کردند، عده‌ای از آن جمله لیو Liu^(۱۵) و ساکازاکی Sakazaki^(۱۸) معتقد بودند که التور بنا بنظر کمیته بین‌المللی طبقه‌بندی ویبریونها باید خاصیت همولیتیک داشته باشد و اگر فاقد این خاصیت باشد نمیتوان آنرا بیوتیپ التور نامید.

برخی دیگر چون مشاهده کردند که از آزمایش همولیز نمیشود جهت تشخیص افتراقی ویبریون کلاسیک و التور استفاده نمایند بفرگ افتادند روشهای دیگری جانشین این آزمایش نمایند روی این اصل موکرچی Mukerjee^(۱۶) در سال ۱۹۶۳ آزمایش مقاومت به فاز IV، فینکل اشتاین

در ضمن التور نام قرنطینه و سازمان بهداشتی منظم و مجهزی است که در ساحل بحر احمر بنا شده و مخصوص بررسی وضع مزاجی حاجیانی است که از زیارت خانه خدا برمیگردند و بممالک افریقائی و احیانا اروپا مراجعت مینمایند و چون اولین بار در سال ۱۹۰۶ گوجلش Gotschich^(۱۰) از اجساد بعضی از زائران خانه خدا که بعلت وبا نمرده بودند این میکرب را بدست آورد و خواص آنرا که شبیه ویبریون وبا بوده مطالعه نمود از این رو این تبی بنام التور نامیده شد.

ویبریون التور از بیماران، ناقلین در دوره نقاهت، ناقلین سالم و از منابع آب آشامیدنی بدست آمده است و بنظر نمیرسد که بیماری خطرناکی در انسان ایجاد نماید ولی گزارشهای متعددی داده شده بود که بیماری بطور تکثیر در شمال اندونزی وجود داشته است و تا سال ۱۹۶۱ بنواحی دوردست گسترش نیافته بود ولی در آن سال از ناحیه خود بیرون آمده و به نواحی جنوب شرقی آسیا منتشر گردید و بتدریج بسمت غرب و شرق انتشار یافت و بصورت عالمگیر درآمد و از اینرو بود که دانشمندان خود را در مقابل

Sakazaki (۱۹) در سال ۱۹۷۱ با اضافه نمودن بعضی مواد مانند گلیسرل و غیره جواب همولیز مثبت بیشتری بدست آوردند و بجای آنکه توجه خود را بیشتر باین نکته معطوف سازند که این بیوتیپ تازه چه اختلافاتی با بیوتیپ التور دارد سعی مینمودند هر دو را یکی جلوه دهند. بالاخره عده‌ای از محققین چون مشاهده کردند که التوری که خاصیت همولیز ندارد ممکن است با التوری که خاصیت همولتیک دارد اختلاف داشته باشد بفرکر طبقه‌بندی تازه در گروه اول هیبرگ افتادند از آن جمله فیلی (۹) Feeley روی خصوصیات همولیز، مقاومت به فاز IV، آگلوتیناسیون گلوبول جوجه، آزمایش VP، و مقاومت به پلی میکسین ب، و پیریونهای گروه اول هیبرگ را به ۵ بیوتیپ که در زیر نشان داده میشود طبقه‌بندی نمود.

Finkelstain (۷) در همان سال آگلوتیناسیون گلوبول قرمز جوجه، پاول Powell (۱۷) در سال ۱۹۶۴ مقاومت به پلی میکسین ب، آبه Abe (۱) در سال ۱۹۶۶، ادیب‌فر (۵) در سال ۱۹۷۳ مقاومت به کلیستین را جهت تشخیص افتراقی بین و پیریون کلرا و بیوتیپ التور پیشنهاد کردند. و از این جهت بدون در نظر گرفتن خاصیت همولتیک و پیریون التور مقاوم به فاز IV، پلی میکسین ب و کلیستین بسوده و گلوبولهای قرمز جوجه را آگلوتینه مینماید در صورتیکه خصوصیات و پیریون کلاسیک کاملاً عکس آنست. عده‌ای دیگر از آن جمله فیلی (۸) Feely و پیتمان Pittman (۸) در سال ۱۹۶۳ سعی نمودند متدهای تازه‌ای جهت انجام آزمایش همولیز پیشنهاد نمایند حتی برخی از آنان مانند لیو (۱۵) LIU در سال ۱۹۵۹ و ساکازاکی

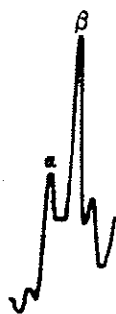
TEST		1	2	3	4	5
Hemolysis	TUBE	-	-	+	-	-
	PLATE	-	-	+	+	-
PHAGE IV		+	+	-	-	-
C.C.A		-	+	+	+	+
V.P		-/(+)	-	+	+/-	+
POLYMYXIN B 50 Units		+	+	-	-	-

C.C.A: Chicken red Cell Agglutination
V.P : Voges-Proskauer

+ : Sensitive
- : Resistant

بدست آید. نمونه‌های مختلفی از زمانهای پیش تاکنون مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد بوسیله این آزمایش حتی پس از چندین سال انواعی که همولیز مثبت داشته‌اند منفی نمیگردند (۴) و بعکس، از طرف دیگر این نمونه‌ها در پرولیزیس گاز کروماتوگرافی (۱۲) مشاهده شد که ویبریون کلرای کلاسیک و نمونه‌های التور چه واجد فعالیت همولیتیک و چه فاقد آن باشند هر کدام از آنها خصوصیات جداگانه‌ای دارند. این خصوصیات در منحنی جذبی در قسمتی که کمپلکس هفت (۷) نامیده میشود و دارای دو قله آلفا و بتا میباشد مشهود است. در ویبریون کلرای کلاسیک ارتفاع قله بتا زیاد ولی قله آلفا کوتاه است و در التور قله آلفا زیاد در صورتیکه بتا کوتاه میباشد و در التوری که دارای خاصیت همولیتیک نمیشد و عالم‌گیری اخیر بیشتر مربوط باین بیوتیپ می‌باشد قله آلفا و بتا کاملاً مساوی و حد واسط بین ویبریون التور و ویبریون کلرای کلاسیک میباشد که در شکل زیر نشان داده میشود.

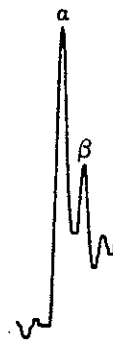
در طبقه‌بندی فوق باید در نظر داشت که نباید به همولیز در پلیت توجه داشت زیرا اکثراً با همودیسیون اشتباه میشود و از طرف دیگر ویبریون وبا حقیقی نیز در روی پلیت همولیز میدهد و همچنین آگلوتیناسیون گلبول قرمز جوجه در مناطق مختلف جهان با یک نمونه میکرب جوابهای متناقضی خواهد داد. این اختلافات ما را بر آن داشت که بجای اینکه دو نوع التور را یکی بدانیم درصد آن برآئیم که اختلافاتی را بین آن دو تشخیص دهیم، در درجه اول سعی شد کلیه متدهائی را که جهت آزمایش فعالیت همولیتیک توسط دانشمندان در نقاط مختلف جهان توصیه شده است با انواع متفاوت گلبول قرمز بکار برده شود (ادیب‌فر ۱۹۷۳) (۶) و مشاهده گردید که اگر آزمایش همولیز که توسط گریک (۱۱) در سال ۱۹۱۴ پیشنهاد شده است بکار رود بهترین جواب بدست خواهد آمد، و از متدهای دیگری که بکار برده‌اند ممکن است بعلت اضافه کردن مواد مختلف جوابهای متناقضی



A- Vibrio Cholerae



B- V. In termediate



C- V. Eltor

روی این اصل ویبریون‌های گروه اول هیبرک را میتوان بجای دو بیوتیپ که تا بحال مشاهده نموده بودند به سه بیوتیپ تقسیم نمود که در زیر نشان داده میشود.

NEW CLASSIFICATION				
NEW CLASSIFICATION VIBRIO BIOTYPE	VIBRIO BIOTYPE	HEMOLYSIS	PHAGE IV	POLYMYXIN B 50 Units
HEIBERY GROUP I	CHOLERAE	-	+	+
	INTERMEDIATE	-	-	-
	ELTOR	+	-	-

مطالعه قرار گرفته‌اند (۳) ولی در مورد انترمدیت هنوز فازهای بخصوصی که بتوان آنها را طبقه‌بندی نمود در نظر گرفته نشده است. ویبریون کلرای بیوتیپ انترمدیت در مقایسه با ویبریون وای کلاسیک قدرت بیماری‌زایی کمتری دارد ولی به عوامل مختلف محیط و آنتی‌بیوتیکها بیش از ویبریون کلاسیک مقاوم بوده و قادر است مدت زیادتری در محیط و آب زنده بماند علاوه بر این با نفوذ بیشتری در ناحیه وسیعتری منتشر شود ضمناً گزارشهای متعددی داده شده است که دفع این نوع ویبریون در برخی بیماران طولانی و ممکن است تا مدتها ناقل مزمن داشته باشد، ویبریون اخیر در کیسه صفرا این افراد باقی مانده و تکثیر می‌یابد و بطور متناوب دفع میگردد بهمین جهت از نظر اپیدمیولوژی مسئله مهمی را در انتقال بیماری و ایجاد میکند و از نظر پیشگیری اشکالاتی بوجود می‌آورد.

سه بیوتیپ فوق علاوه بر اختلافاتی که در گاز لیکید- کروماتوگرافی، همولیز، مقاومت به فاز IV و مقاومت به پلی میکسین B، نشان میدهند از نظر رنگ‌آمیزی گرم و شکل ظاهری نیز دارای اختلافاتی می‌باشند. بطوریکه ویبریون التور که دارای خاصیت همولیز می‌باشد کلفت‌تر و در هنگام رنگ‌آمیزی گرم در زمان ۱۰ ثانیه که فوشین اضافه نمایند کاملاً بخود رنگ میگیرد در صورتیکه ویبریون کلرای کلاسیک باریک‌تر و در مدت ۱۰ ثانیه رنگ فوشین را بخود نگرفته و خیلی کم - رنگ بنظر میرسد و برای اینکه خوبی مشاهده شود حداقل ۳۰ ثانیه وقت لازم دارد در صورتیکه ویبریون التور که فاقد قدرت همولتیک است و در این جا حد واسطه‌ای نامیده میشود از نظر ضخامت و رنگ‌آمیزی گرم حد فاصل آندو است. از نقطه نظر فاز تایپینگ با علم باینکه در فاز تایپینگ فازهایی که ویبریون کلاسیک و التور را لیز میکنند مورد

References

1. Abe, H. 1966. Colistin Disk; a Differential method between vibrio cholera and vibrio eltor. J. Antibiotics, ser. A, 19, 13.
2. Adibfar, P. and Lashkari, K. 1973. Observation on vibrio letor. J. Med. Microbiology., Vol, 7.
3. Adibfar, P. 1973. Phage Typing of vivrio letor. Acta. Med. Iranica., Vol. 14.
4. Adibfar, P. 1973. A Study of the Haemolytic activity of vivrio cholerae. thesis for dip Bact.
5. Adibfar, P. 1974. The sensitivity of vivrio eltor strains to a variety of antibacterial agents. J. Trop. Med & Hyg., Vol. 77.

6. Adibfar, P. and Preston, N.W. 1974. Some factors Affecting the Haemolytic activity of vibrio cholerae. *J. Med. Mic.*, Vol. 7.
7. Finkelstein, R.A. and Mukerjee, s 1963. Haemagglutination. Arapid Method for differentiating V. V. Choletae and eltor vivrio. *proc. soc. Exptl. Biol. Med.* 112. 355.
8. Feeley, J.C. and pittman, M. 1963, Studies on the Haemolytic activity of eltor vibrios. *Bull. wld hlth org.*, 28, 347.
9. Feeley: J.C. 1965. Classification of vibrio cholerae Including eltor vibrios, by Intrasub-specific characteristics. *J. Bact.*, 89, 665.
10. Gotschlich, F. 1906. vber Cholera und cholera hmliche vibrionen unter den aus Mekka Pilgern. *Z. Hyg. Infektkrankh.*, 53, 281.
11. Greig, E.D.W. 1914. The Haemolytic Action of Indian strains of cholera and choleralike vibrios. *Indian. J. Med. Res.*, 2, 623.
12. Haddadin, J.M., Stirland, R.M., Preston, N.W. and Collard, P. 1973. Identification of Vibrio cholerae by pyrolysis -gas-Liquid chromatography. *Appl. Micro.*, 25, 40.
13. Koch, R. 1887. Die cholarabacillen. ihre leben siegenshaften und die. Art ihrer verbreitung arbet. *Kaisest Ges.* 3: 155.
14. Kraus, R., and Pribram, E. 1905. *Wien Klin. Wschr.*, 18, 999.
15. Liu, P.V. 1959. Studies on Haemolysin of vibrio cholerae. *J. Infect. Dis.*, 104, 238.
16. Mukerjee, s. 1963. The Bacteriophage-Susceptibility test in differentiating vibrio cholerae and vibrio eltor. *Bull. wld hlth org.*, 28. 333.
17. Powell, C.J. and Finkelstein, R.A. 1964. Polymyxin agar as an adjust in the siolation of eltor virbios *J. Bact.*, 87 95): 1249.
18. Sakazaki, Rhchi. Hazumichi, Tamura and mingura murase. 1971. Determination of the Hemolytics activity of virvio cholerae. *Japan. J. Med. Sct.*, 24, 83.
19. Sakazaki, R., Tamura, K. and Murase, M. 1970. *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, 24, 83.