

بررسی اپیدمی و بای التور

مجله نظام پزشکی
سال هشتم، شماره ۱، صفحه ۱۴، ۱۳۶۰

دکتر پرویز ادبی فر - خیر النساء خمامی - فرهاد مداوی *

مقدمه:

و با بیماری عفونی و مسری است که بصورت تک گیر، همه گیر و عالم گیر دیده میشود. انتشار بیماری بعلت آلوده شدن اغذیه یا مایعات به مدفوع بیماران، افراد سالم حامل میکرب بیماری صورت میگیرد.

دوره نهفنگی این بیماری بر حسب مقاومت طبیعی بیمار و قدرت بیماریزایی میکرب از یک تا پنج روز است. هر چند ممکن است اشکال بالینی خفیف با اسهال ساده نیز وجود داشته باشد، ولی معمولاً شروع بیماری ناگهانی و با اسهال واستقراغ شدید همراه است. اسهال آبکی با حجم زیاد و تکرار فراوان که بسرعت شکل مدفعوعی را از دست داده و بصورت مایع خاکستری و کدری شبیه آب پر نج درمیآید. حجم کلی مایعات که دفع میشود ممکن است به چندین لیتر در شبانه روز برسد.

علاوه بر اسهال واستقراغ کم شدن درجه حرارت بدن، از بین رفقن آب و املاح، غلیظ شدن خون و کبدی پسوسن، انقباض دردناک عضلات، فشارخون پائین، کاهش حجم ادرار، دهان خشک، چشمها فرورفت و پوست چروکیده از عالم دیگر بیماری است. دوره بیماری در اشکال درمان نشده بطور متوسط ۲ تا ۵ روز طول میکشد. پیش آگاهی بستگی به وضع سلامتی قبلی بیمار و درمانهای انجام شده دارد. با درمان فوری و صحیح میتوان میزان مرگ و میر را در بالغین به کمتر از ۱٪ و در اطفال به ۳٪ رساند.

متاسفانه این بیماری بارها به ایران حمله کرده و خسارات جانی

* گروه میکروبشناسی و ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران.

کلیه لوله‌های هوایی و بی‌هوایی تغییر رنگ داده و وزرد گردیدند. از طرفی کلیه نمونه‌ها با آنتی‌سرم پایی و اینبا اگلوتینه شدند. با در نظر گرفتن نتیجه آزمایش‌های فوق بنظر میرسد که ویریون جدا شده از بیماران از نوع التور و سروتیپ اینبا بودند. در فاز تایپینگ، ۱۲۰ نمونه تیپ ۵۳، ۴ نمونه تیپ ۵ و یک مورد پس از سه بار تکرار غیرقابل تیپ بندی بود.

نتیجه آنتی‌بیوگرام با مختصر اختلافی که در جداول تیپ ۴ و ۵ مشاهده شد، تقریباً نسبت به باکتریم، سفالوسپورین، نیترو-فورانتوئین، کلرامفنیکل، سولفاتریايد، تتراسیکلین، امپی‌سیلین، جنتامایسین، متانامین ماندلات و ادیترو‌مایسین حساس بودند و نسبت به کانا‌ناما‌مایسین و نویوسین کم حساس و نسبت به استرپتومایسین بسیار کم حساس و همکی شبیت به پلی‌میکسین B و کولیستین و گروه پنی‌سیلین به استثناء آمپی‌سیلین مقاوم بوده‌اند.

۲- بررسی وضع اپیدمی از نظر تاریخ مراجعت بیماران: جدول شماره یک روز و تعداد بستری شدگان را نشان میدهد: چنانچه ملاحظه می‌شود در روزهای اول تعداد نسبتاً زیادی بیمار بستری گردیدند که عده‌ای از آنها بعلت اسهال و استفراغ ساده مراجعت نموده و بعضی نیز مبتلا به وبا و از نقاط مختلف شهر مراجعت کرده بودند و این نشان میدهد هنگامیکه بیمارستان اقدام به بستری کردن بیماران نمود مدتی از شروع بیماری می‌گذشت.

در تاریخ ۲۴ تیر ماه بعلت تقلیل بیماری وجود تسهیلات درمانی کافی در بیمارستانهای دیگر و همچنین خاتمه اپیدمی، از بستری کردن بیماران مشکوک خودداری شد. تعداد کل بستری شدگان ۵۱۸ تن بود که از بین آنها ۱۷۴ مورد کشت مثبت جدا گردید. نمودار شماره یک تعداد موارد بستری شده بر حسب روز را نشان میدهد، بطور کلی در اولین هفته بستری کردن بیماران عدد مراجعتی زیاد بود و بدین پیش بعلت خاموش شدن اپیدمی تعداد آنها نیز کاهش یافت. علت بی‌نفلومی‌هایی که در شکل منحنی دیده می‌شود ثبت تعداد موارد بیماری بر حسب روز است که عوامل متعددی در آن دخالت داشته است. چنانچه اپیدمی مدت بیشتری طول می‌کشد و موارد بیماری بطور هفتگی در منحنی وارد می‌شود نمودار شکل مفظنم تری بخود می‌گرفت.

نمودار شماره ۲ مواردی را که کشت مدفوع مثبت داشته‌اند نشان میدهد. بطور کلی شکل این نمودار تقریباً شبیه نمودار موارد بستری شده‌است، منتهی تعداد آن در روزهای مختلف از ۵٪ تا ۶۵٪ تغییر می‌کند. در هر حال از ۰٪ موارد بستری شده کمتر است. این امر میتواند دلایل متعددی داشته باشد:

بیماران بعلت بی‌حالی قادر به جواب دادن نبودند، از اطراف این آنان روی‌اوراقی که قبل از آماده شده بود شرح حال گرفته می‌شد و بلا فاصله هنگام بستری شدن و قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک یا هر داروی دیگری، مدفوع بیماران بوسیله پیتونه نمونه برداری از رکتوم (Rectal Swab) در محیط آب پیتونه یا در ظرف شیشه‌ای سربسته جهت تشخیص باکتریولوژی به آزمایشگاه ارسال می‌گردید (۱۴).

مدفوع بلا فاصله در روی آب پیتونه با $pH = ۴/۸$ منتقل شده و پس از ۴ تا ۶ ساعت که پرده تشکیل می‌گردید از آن در روی محیط T.C.B.S. Agar Dehydrated (Difco) و منصور (Monsur) کشت داده می‌شد (۱۲) و کلیه‌های جدا بدست می‌آمد. پس از ۲۴ ساعث کلیه‌های مشکوک را روی محیط کلیگلر (Kligler) و همزمان با آن میکروب روی ژلر غذائی ساده کشت داده شده سپس با سرم پلی‌والان و پس از آن با سرهای اختصاصی اینباوا و گاوا آزمایش می‌گردید و در صورت آگلوتیناسیون به بخش مرتبه جواب داده می‌شد. همزمان با این کار آزمایش‌های دیگری مانند تخمیر مانیتول، قندهای آرایینوز، مانوز، ساکارز (۹)، حساسیت به فاز IV موکرجی (Mukerjee) (۱۶)، آگلوتیناسیون گلبول قرمز مرغ، همولیز گلبول قرمز گوسفند (۸)، آزمایش Voges Proskauer V. P. پلی‌میکسین B (۱۷)، اکسید از تست و آزمایش اکسیداسیون و فرماتانتاسیون انجام می‌شد.

علاوه بر آزمایش‌های فوق پس از تشخیص و تأیید باکتری، نمونه‌های جدا شده نسبت به ۱۹ ماده ضد میکروبی تعیین حساسیت گردیدند (۵). همچنین از نمونه‌های مثبت فاز تایپینگ بعمل آمد (۳). در بعضی موارد فیزی از تشخیص سریع با میکروسکوپ کنتر اس است دوفاز استفاده می‌شد (۷).

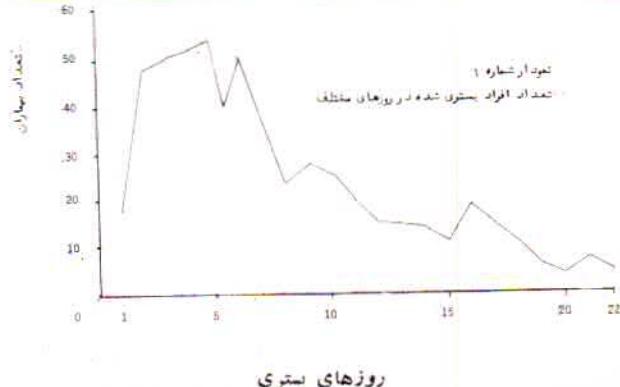
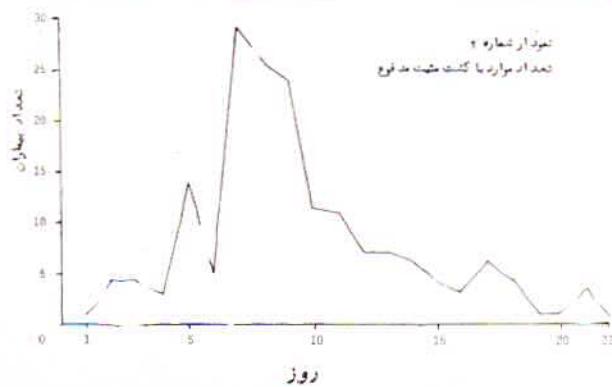
نتایج:

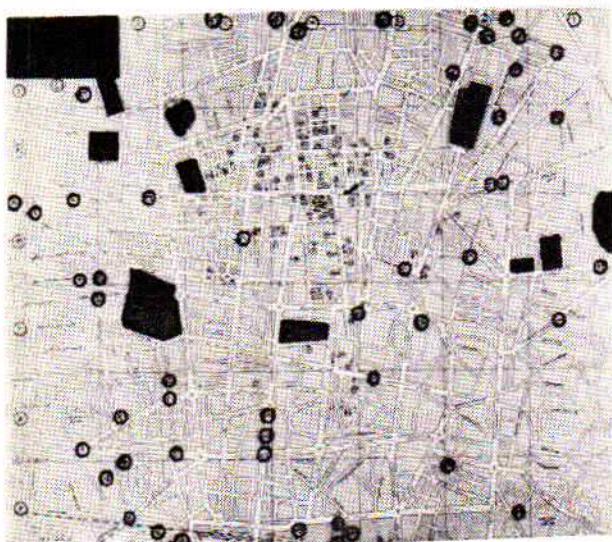
۱- از بین ۵۱۸ تن که بستری شده بودند، ۱۷۴ نمونه کشت مثبت جدا گردید.

کلیه ۱۷۴ مورد نسبت به فاز IV موکرجی، پلی‌میکسین B مقاوم بوده و تمام آنها گلبول قرمز جوجه را اگلوتینه کرده‌اند. همولیز در لوله فقط در ۱۰ مورد مثبت بود. در صورتیکه در پلیت Voges Proskauer V. P. مثبت بود. تمام نمونه‌ها (H_2S) منفی، اندول واکسیداز مثبت بودند، مانوز، سوکروز و مانیتول را تخمیر و ارایینوز را تخمیر نکردند. در آزمایش اکسیداسیون و فرماتانتاسیون

جدول شماره ۱- روز و تعداد بسته‌ی شدگان

تعداد کل افراد			زنها			مردها			روزهای بستری	شماره ردیف
منفی	مثبت	بستری	منفی	مثبت	بستری	منفی	مثبت	بستری		
۱۷	۱	۱۸	۳	-	۳	۱۴	۱	۱۵	روز اول	۱
۳۷	۴	۴۱	۱۴	۲	۱۶	۲۳	۲	۲۵	روز دوم	۲
۳۳	۴	۳۷	۱۷	۱	۱۸	۱۶	۳	۱۹	روز سوم	۳
۴۳	-	۴۶	۲۱	۱	۲۲	۲۲	۲	۲۴	روز چهارم	۴
۳۴	۱۴	۴۸	۱۲	۱	۱۳	۲۲	۱۳	۲۵	روز پنجم	۵
۲۴	۵	۲۹	۱۱	۳	۱۴	۱۳	۲	۱۵	روز ششم	۶
۱۵	۲۹	۴۴	۵	۸	۱۳	۱۰	۲۱	۲۱	روز هفتم	۷
۲۳	۲۶	۴۹	۱۳	۱۳	۲۶	۱۰	۱۲	۲۳	روز هشتم	۸
۱۴	۲۴	۲۸	۴	۱۲	۱۶	۱۰	۱۲	۲۲	روز نهم	۹
۱۱	۱۱	۲۲	۲	۵	۷	۹	۶	۱۵	روز دهم	۱۰
۱۴	۱۱	۲۵	۶	۵	۱۱	۸	۶	۱۴	روز یازدهم	۱۱
۸	۷	۱۵	۶	۴	۱۰	۲	۳	۵	روزدوازدهم	۱۲
۱۰	۷	۱۷	۵	۳	۸	۵	۴	۹	روز سیزدهم	۱۳
۱۰	۶	۱۶	۶	۵	۱۱	۴	۱	۵	روز چهاردهم	۱۴
۸	۴	۱۲	۶	۲	۸	۲	۲	۴	روز پانزدهم	۱۵
۲۰	۳	۲۲	۸	۲	۱۰	۱۲	۱	۱۳	روز شانزدهم	۱۶
۸	۶	۱۴	۳	۳	۶	۵	۳	۸	روز هفدهم	۱۷
۴	۴	۸	۲	۱	۳	۲	۳	۵	روز هیجدهم	۱۸
۳	۱	۴	-	۱	۱	۳	-	۳	روز نوزدهم	۱۹
۱	۱	۲	-	-	-	۱	۱	۲	روز بیست	۲۰
۴	۳	۷	۲	۲	۴	۲	۱	۳	روز بیست و یکم	۲۱
۴	-	۳	۱	-	۱	۲	-	۲	روز بیست و دوم	۲۲
۳۴۴	۱۷۴	۵۱۸	۱۴۷	۷۴	۲۲۱	۱۹۷	۱۰۰	۲۹۷	جمع کل	





نقشه انتشار موارد بیماری

کمتر از ۲۰ سال تشکیل میدهنند معلوم میشود که میزان بیماری محتملا در بالغان بیش از اطفال و نوجوانان بوده است. علت این امر را میتوان در امکان تماس بیشتر با اشخاص و مواد آلوده برای بالغان که بیشتر وقت خودرا در خارج از خانه میگذرانند دانست. شاید هم والدین میل نداشتند که بچه های خود را به بیمارستان بیاورند چون مسئولان اجازه ماندن مادران را در آنجا نمیدادند. همچنین جدول نشان میدهد که موارد مرگ و میر بطور عمده در بیماران ۳۰ سال یا لایا اتفاق افتاده است (باستثنای سه دختر کمتر از ده سال) و شاید این امر میان این باشد که کودکان و نوجوانان مقاومت بیشتری نسبت به بیماری دارند و شاید هم بعلت پائین تر

- ۱- تمام موارد بیماری کشت مثبت ندارد.
 - ۲- در تمام مواردی که میگردد در مدفوع وجود داشت اقدام به کشت با موقفيت قطعی توأم نبوده است.
 - ۳- تعداد زیادی از موارد بستری ممکن است اصولاً مبتلا به وبا نبوده باشند.
 - ۴- تعدادی از افراد را بلا فاصله کسانشان از بیمارستان میبرند و فرست آزمایش نبود.
 - ۵- با تذکر این که داده شده بود امکان داشت عده ای از بیماران قبل از اقدام به کشت مدفوع، آنکه بیوتیک مصرف کرده و محتملاً این امر سبب منفی شدن کشت مدفوع بوده است.
- در ۱۵۳ تن از ۱۷۴ مورد مثبت، درباره تزریق واکسن سؤالاتی شد و معلوم گردید ۲۵۶ تن آنها سابقه واکسیناسیون ضدو بادشته اند و این امر نشان میدهد که واکسیناسیون در پیشگیری از ابتلاء و بای النور نتیجه قطعی نداشته است.

- ۶- مشخصات سنی و جنسی بیماران بستری شده:
- جدول شماره ۲ بیماران بستری شده را بر حسب جنس و گروه های سنی و همچنین مرگ و میر نشان میدهد.

چنانچه ذکر شد بیماری از سنین کودکی تا کهولت بطور تقریباً یکسان دیده میشود که خود نشانه فقدان مصونیت در افراد جمعیت مواجه با بیماری است. جوانترین بیماردار ای کشت مثبت یک پسر هشت ماهه و مسن ترین آنها یک زن ۹۰ ساله بوده است. ارقام جدول نشان میدهد که عده مبتلایان در بالغان نسبتاً زیادتر است. با در نظر گرفتن اینکه اکثریت جمعیت شهر را گروه سنی

جدول شماره ۲ - مشخصات سنی و جنسی بیماران بستری شده

ردیف	شماره	سن	مرد	مشخصات سنی و جنسی بیماران بستری شده									
				مرگ و میر و اردیه مثبت	تعداد کل افراد بستری	زن		مرد		سن			
جمع	مرد	زن	جمع	منفی	مثبت	جمع	منفی	مثبت	جمع	منفی	مثبت	مرد	زن
۲	-	۲	۷۳	۶۰	۱۳	۲۹	۲۴	۵	۴۴	۳۶	۸	۰ تا ۵ سال	۱
۱	-	۱	۲۵	۱۵	۱۰	۷	۲	۵	۱۸	۱۳	۵	۵ تا ۱۰ سال	۲
-	-	-	۶۲	۵۱	۱۶	۳۰	۲۱	۹	۲۷	۳۰	۷	۱۰ تا ۲۰ سال	۳
-	-	-	۹۷	۶۲	۳۵	۴۲	۲۷	۱۵	۵۵	۳۵	۲۰	۲۰ تا ۳۰ سال	۴
۱	۱	-	۹۶	۶۶	۲۰	۴۷	۳۹	۸	۴۹	۲۷	۲۲	۳۰ تا ۴۰ سال	۵
۲	۲	-	۶۴	۳۵	۲۹	۲۷	۱۲	۱۵	۳۷	۲۳	۱۴	۴۰ تا ۵۰ سال	۶
۵	۳	۲	۹۶	۵۵	۴۱	۲۹	۲۲	۱۲	۵۷	۳۳	۲۲	از ۵۰ سال یا لایا	۷
۱۱	۶	۵	۵۱۸	۳۴۴	۱۷۲	۲۲۱	۱۴۷	۷۴	۲۹۷	۱۹۷	۱۰۰	جمع کل	

التور بنا بنظر کمیته بین‌المللی طبقه بندی ویبریونها باید خاصیت همولیتیک داشته باشد و اگر فاقد این خاصیت باشد نمیتوان آنرا بیوتیپ التور نامید.

برخی دیگران آنچه Feeley & Pittman (۱۱) سعی نموده‌اند روش‌های تازه‌ای جهت انجام آزمایش همولیز پیشنهاد نمایند. حتی عده‌ای کوشش کرده‌اند با اضافه نمودن بعضی مواد مانند گلیسرل وغیره جواب مثبت پیشتری بدست آورند و بجای آنکه توجه خود را باین نکته معطوف سازند که این بیوتیپ تازه که در عالم‌گیری اخیر مشاهده گردیده است چه اختلافاتی با بیوتیپ التور دارد، سعی مینمودند هردو را یکی جلوه دهنند. بالاخره عده‌ای از محققان چون مشاهده کردن التوری که خاصیت همولیتیک ندارد ممکن است با التوری که خاصیت همولیتیک دارد اختلاف داشته باشد، بفرک طبقه بندی جدید در گروه اول هیبرگ افتادند. این اختلاف‌ها مارا بر آن داشت، بجای اینکه دو نوع التور را یکی بدانیم در صدد برآئیم که اختلافاتی را بین آن‌دو تشخیص دهیم. ضمن آزمایش‌های متعددی که با انواع متفاوت گلوبول قرمز نمونه‌های مختلف از زمانه‌ای قدیم تا کنون انجام گرفته است (۴)، مشاهده گردید که آزمایش همولیز در لوله در انواعی که همولیز مثبت داشته‌اند منفی نمی‌شود و بعکس، از طرف دیگر مشاهده شد نمونه‌های که دارای همولیز منفی می‌باشند در پرولیزین گاز کروماتوگرافی (۱۳)، رنگ آمیزی گرم و شکل ظاهری از نظر کلفتی و نازکی کامل‌احد و اسط بین ویبریون کلرای کلاسیک و ویبریون التوری که دارای همولیز مثبت است، می‌باشد (۶). روی این اصل بهتر است نمونه‌های التوری را که خاصیت همولیتیک ندارند و پیشتر عالم‌گیری اخیر مر بروط باین نوع می‌باشد، تحت عنوان گروه واسطه نام‌گذاری کرد و ویبریونهای گروه اول هیبرگ را بجای دو بیوتیپ کلره و التور به سه بیوتیپ کلره، انترمیت والتور طبقه بندی نمود (۲). توضیح آنکه انواع انترمیت با مقایسه با ویبریون و با کلاسیک والتور قدرت بیماری‌زائی کمتری دارد ولی به عوامل مختلف «جیبت و آنتی‌پیسوتیک‌ها مقاومت بوده و قادر است مدت زیادتری در «جیبت و آب‌زنده بماند. علاوه بر این با نفوذ پیشتری در ناحیه وسیعتری منتشر گردد. شما گزارش‌های متعددی داده شده است که دفع این نوع ویبریون در برخی از بیماران طولانی و ممکن است تا مدت‌ها ناقل مزمن داشته و بطور متناوب دفع گردد، بهمین جهت از نظر ایدمیولوژی مستله مهمی را در انتقال بیماری و با ایجاد میکند و از نظر پیشگیری اشکالاتی بوجود می‌آورد.

بودن میزان بیماری در این گروه است. نقشه انتشار موارد بیماری که کشت مثبت داشته‌اند بر حسب ترتیب مراجعت نشان میدهد که موارد بیماری در آن واحد در نقاط مختلف شهر وجود داشته است و در مدت زمانی که ما بیماری را مطالعه می‌کردیم، بیماری بطور مشخص از سمتی به سمت دیگر شهر در حال حرکت نبوده، بلکه در آن موقع تقریباً تمام قسمتهای شهرآلوده بوده است. و شاید علت این امر در آن باشد که قبل از بستری کردن بیماران، بیماری مدتی در شهر شایع بوده است. چنانچه از اولین مورد بیماری اطلاع در دست بود عیتوانستیم با تهیه چنین نقشه شروع و مسیر گسترش بیماری را بطور تقریبی در شهر معین کنیم. نحوه انتشار موارد در شهر نشان میدهد که قسمت اعظم موارد بیماری در نواحی حومه شهر، بخصوص در قسمتهای جنوب غربی و جنوب عارض شده و مواردی که از مرکز شهر گزارش شده‌است، ۹٪ کل موارد هستند که قسمت اعظم آنها مربوط به محلات جنوبی شهر یعنی محلات فقیر نشین می‌باشد و افرادی که در بیمارستان بستری گردیدند باستثناء چند مورد اکثر افرادی فقیر بودند. کمی تعداد در جنوب شهر قی ممکن است به این علت باشد که بیماران آن مناطق به بیمارستان دیگری که در آن حدود بود فرستاده می‌شدند.

بحث :

نتیجه‌ای که از این بررسی میتوان گرفت اینستکه این ایدمی تمایی سنین را در بر گرفته ولی شدت و وخامت آن در افراد بزرگ‌سال پیشتر بوده است و بر طبق آنچه در دیگر نقاط دنیا به ثبوت رسیده است افراد در معرض خطر پیشتر از طبقات مستمندو کم در آمد بوده‌اند و چون این بررسی روی عده محدودی از بیماران بستری شده که در یک بیمارستان تحت درمان قرار گرفته‌اند انجام گرفته است، نتایج حاصله را نمیتوان به تمام جامعه تعمیم داد. چنانچه سازمانی با نظارت کلی تر بر جامعه، نتایج بررسی برای کلیه بیماران را تجزیه و تحلیل می‌کرد بسیاری از نکات ایدمیولوژیک بیماری روشن می‌شد.

ضمناً چون در آنتی‌بیوتیک‌گرام مشاهده شد که کلیه نمونه‌ها همان‌نظور که نسبت به پلی میکسین B مقاوم بودند، نسبت به کلیستین نیز مقاوم می‌باشند. نمیتوان نظر آبه (Abe) (را ببنوای استفاده از کلیستین جهت تشخیص افتراقی بین ویبریون کلره والتور را مورد تأیید قرار داد (۱). از طرف دیگر ضمن آزمایش همولیز مشاهده شد که اکثر نمونه‌ها (۱۶۴ مورد) جواب همولیز در لوله منفی بوده است و این امر باعث اختلاف سلیقه بین محققان گردید و عده‌ای از جمله Liu (۱۵) و ساکازاکی (Sakazaki) (۱۸) معتقد بودند که

REFERENCES :

- 1- Abe, H.: Colistin Disk, a differential method between vibrio cholera and vibrio eltor. J. Antibiotics, Ser. A. 19, 13. 1966.
- 2- Adibfar, P. and Lashkari, K.: Observation on vibri eltor. J. Med. Microbiol 7. 127-130. 1973.
- 3- Adibfar, P: phage typing of Vibrio eltor. Acta. Med. Iranica., 14. 29-34, 1973.
- 4- Adibfar, P. and Preston, N. W.: Some factors affecting the haemolytic activity of Vibrio cholerae . J. Med. Microbiol. 7. 521-527. 1974.
- 5- Adibfar. P.: The sensitivity of Vibrio eltor strains to a variety of antibacterial agents. J. Trop. Med. & Hyg., 77. 159-162. 1974.
- 6- Adibfar, P.: Review of cholera in the the past 15 years. J. of Med. Fac. of Tehran. 97-103, 1975.
- 7- Adibfar, P.: Rapid diagnosis of V. cholerae by phase contrast Microscope. J. of Med. Faculty of Tehran. 163-167. 1970.
- 8- Barua, D.: and Mukerjee, B.: Bull. Caluatta Sch. Trop. Med. 12, 100. 1964.
- 9- Barua, D.: Principle and Practice of Cholera, in « Public Health Papers (40) » W. H. O. Geneve. 1970.
- 10- Bailey , W. R . and Scott, E. J.: Diagnostic Microbiology , 5th. Edition, C. V. Mosby Company. 403. 1978,
- 11- Feeley, J. C. and Pittman, M.: Studies on the Haemolytic activity of eltor Vibrios, by Intrasubsp ecific characteristics. J. Bact. 89, 665. 1963.
- 12- Felsenfeld, O.: cholera Problem, Warren, H. Green. inc. P. 57. 1967.
- 13- Haddadin, J. M., Stirland, R. M. Preston. N. W. and Collard, P.: Identification of Vibrio cholerae by pyrolysis - gas - liquid chromatography. Appl. Mic. 25, 40. 1973.
- 14- Jawets, E., Melnick , J. L. and Adelberg, E. A.: Review of Medical Microbiology , 14th. Edition . Lange Medical Publication, P. 239. 1980.
- 15- Liu, P. V: Studies on the haemolysin of Vibrio cholerae J. Infect. Dis. 104, 238. 1959.
- 16- Mukerjee, B.: J. Patholl. Bact. 91, 256. 1965.
- 17- Roy, C., Mridha, K. and Mukerjee, S: Proc. Soc. Exptl. Biol. 119, 893 - 896. 1965.
- 18- Sakazaki, R., Hazumichi, T., and Mingura, M.: Determination of the haemolitics activity of Vibrio cholerae. Japan. J. Med. Sci. 24, 83. 1971.