مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره 22، شماره 3، پاییز 91، صفحات 226 تا 231

Original Article

Downloaded from iau-tmuj.ir at 15:56 +0330 on Sunday December 16th 2018

بررسی کفایت حذف روتاویروس‌های انسانی گروه A در سیستم‌های تصفیه فاضلاب شهری و بیمارستانی شهر شیراز

نگین جاودانی[1]، محمد کارگر[2]، مریم قدسی[3]

[1]کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم
[2]دانشیار میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم
[3]کارشناس ارشد آمار، گروه ریاضی و آمار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم

چکیده

سابقه و هدف: *روتاویروس‌های انسانی گروه A شایع‌ترین عامل اسهال کودکان می‌باشند که در منابع آبی، مانند آب‌های زاید و تیمار شده تمامی دنیا شناسایی شده‌اند. هدف از این پژوهش، پایش محیطی روتاویروس‌های انسانی گروه A در نمونه‌های ورودی و خروجی سیستم‌های فاضلاب شهری و بیمارستانی شهر شیراز می باشد.*

روش بررسی: *این پژوهش به صورت مقطعی- توصیفی بر روی 60 نمونه فاضلاب جمع‌آوری شده با روش Grab Sampling از قسمت‌های ورودی و خروجی سیستم تصفیه فاضلاب شهری و فاضلاب بیمارستان نمازی شیراز انجام شد. تمامی نمونه‌ها با دو روش Pellet و Two-phase تغلیظ گردیدند. سپس روتاویروس‌های انسانی گروه A با استفاده از تکنیک آنزیم ایمونواسی (EIA) شناسایی شدند.*

یافته‌ها: *از مجموع نمونه‌های مورد بررسی، در 15 نمونه (25%) روتاویروس انسانی گروه A شناسایی گردید که 11 مورد آن (73/33%) مربوط به ورودی و 4 مورد (26/67%) مربوط به سیستم خروجی فاضلاب بود. نتایج نشان داد که بین جداسازی ویروس در قسمت‌های ورودی و خروجی سیستم های تصفیه فاضلاب مورد بررسی اختلاف معنی داری وجود دارد. همچنین بین جداسازی روتاویروس ها و ماه‌های نمونه‌گیری اختلاف معنی‌داری وجود داشت.*

نتیجه‌گیری: *این پژوهش عدم کفایت سیستم‌های تصفیه‌ای در حذف کامل روتاویروس‌های انسانی گروه A را نشان داد.*

واژگان کلیدی: *روتاویروس انسانی گروه A، سیستم‌های تصفیه فاضلاب، آنزیم ایمونواسی.*

مقدمه

روتاویروس‌ها به طور گسترده‌ای در جهان پراکنده‌اند و عامل عفونت‌های شدید حاصل از آب در نوزادان، کودکان، بزرگسالان و افراد دچار نقص در سیستم ایمنی هستند. در کشورهای جهان سوم سالانه بیش از 125 میلیون مورد گاستروانتریت روتاویروسی در کودکان رخ می‌دهد. روتاویروس‌های انسانی عامل بالاترین عفونت‌زایی در میان ویروس‌های قابل انتقال از طریق آب (آب زاد) و بیشترین تلفات (مرگ و میر) شناخته شده حاصل از گاستروانتریت‌های روده‌ای هستند (1).

بیماری‌های وابسته به روتاویروس در سه زمینه بالینی موارد خفیف، موارد در حد متوسط و موارد شدید تعیین می‌شوند. روتاویروس‌ها به‌طور متوسط در هر سال موجب حدود 111 میلیون مورد گاستروانتریت خفیف، 25 میلیون مورد متوسط و 2 میلیون مورد گاستروانتریت شدید در افراد می‌شوند. در کودکان زیر 5 سال سالانه حدود 323000 تا 529000 مورد

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم ، دکتر محمد کارگر
(**email**: mkargar@jia.ac.ir)
تاریخ دریافت مقاله: 1390/2/1
تاریخ پذیرش مقاله: 1390/8/9

Downloaded from iau-tmuj.ir at 15:56 +0330 on Sunday December 16th 2018

مرگ بر اثر این اسهال عفونی رخ می‌دهد و بروز بیماری روتاویروس هم در کشورهای صنعتی و هم در حال توسعه مشابه بوده است. با بهبود کیفیت آب، بهداشت و مراعات اصول بهداشتی نیز امکان دارد شرایط مناسب آب آشامیدنی فراهم نگردد. در نتیجه، توسعه و استفاده گسترده از واکسن روتاویروسی برای جلوگیری از بیماری‌های سخت و مهلک ناشی از روتاویروس توصیه شده است (2). روتاویروس‌ها در آب‌های زاید، فاضلاب تیمار شده، رسوبات فاضلاب، آب‌های سطحی، آب‌های زیرزمینی و همچنین در آب‌های آشامیدنی شناسایی داده شده‌اند. این ویروس برای اولین بار توسط Steinmann در سال 1981 در آب‌های زاید کشف شد. سپس توسط Bates، Hejkal و همکاران در فاضلاب تیمار شده شناسایی شدند. این ویروس‌ها به تعداد بسیار زیاد از افراد بیمار دفع می‌گردند، اما زمان ورود به آب و فاضلاب بسیار رقیق می‌شوند و غلظت آنها کاهش می‌یابد. حضور این ویروس‌ها در فاضلاب نشان دهنده قابل انتقال بودن این ویروس‌ها از طریق آب می‌باشد. برای برآورد خطر سلامتی نسبت داده شده به روتاویروس‌ها در آب‌های آلوده شده با فاضلاب روش‌های حساس و مطمئنی مورد نیاز است. تاکید بر استفاده از دستورالعمل‌های سازمان بهداشت جهانی در استفاده از موثرترین تیمار فاضلاب، اهمیت ویژه‌ای دارد و علت آن حجم بالای روتاویروس‌ها در فاضلاب می باشد که توانایی انتقال از طریق آب را دارد (3،1). به علت تغییرات ژنتیکی فراوان در ژنوم روتاویروس، اطلاعات اپیدمیولوژی مولکولی روتاویروس‌های در حال چرخش ضروری به نظر می‌رسد و البته پایش روتاویروس‌ها در جامعه در زمان قبل، حین و پس از معرفی واکسن لازم است. برای کنترل موفقیت‌آمیز بیماری‌های اسهالی از طریق واکسیناسیون، ضرورت پایش مداوم تایپ‌های روتاویروسی وجود دارد (4). پاتوژن‌های ویروسی که می‌توانند از طریق آب منتقل شوند، تاثیر اجتماعی و اقتصادی بزرگی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه دارند. البته اثرات زیان بار و میزان شیوع بیماری در مناطقی از جهان که دارای محیط-های آلوده‌تری هستند، شدیدتر است. آب‌هایی که توسط مدفوع انسانی آلوده می‌گردند، بیشترین اهمیت را در انتقال این دسته از بیماری‌ها دارند. توزیع روتاویروس‌ها در فاضلاب و آب-های آلوده به دو مورد میزان بیماری های ویروسی در جمعیت و در دسترس بودن سیستم پردازش فاضلاب شهری بستگی دارد (5). با توجه به وجود نداشتن هیچ گزارشی از پایش محیطی روتاویروس‌ها در ایران، در این مطالعه فرض براین بود که پراکنش روتاویروس‌های انسانی در فصول مختلف متفاوت است. همچنین این فرضیه وجود داشت که سیستم‌های تصفیه فاضلاب کارایی لازم برای حذف کامل روتاویروس‌های گروه A را ندارند. از این‌رو، این پژوهش با هدف پایش محیطی روتاویروس‌های انسانی گروه A به منظور ارزیابی موفقیت‌آمیز بودن کارایی سیستم تصفیه فاضلاب شهری و بیمارستانی شهر شیراز انجام شد.

مواد و روشها

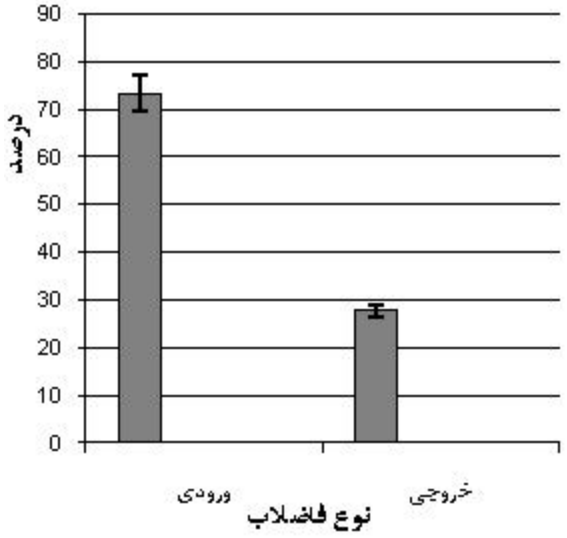
از مهر ماه 1388 تا خرداد 1389، با همکاری سازمان آب و فاضلاب مرکزی شیراز و مسئولین بیمارستان نمازی، 60 نمونه فاضلاب با روش نمونه‌گیری در دوره‌های منظم (Grab sampling) از سیستم مرکزی تصفیه خانه فاضلاب و بیمارستان نمازی شیراز تهیه گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده مربوط به قسمت‌های ورودی (Influent) و خروجی (Effluent) سیستم‌ها بودند. حجم تمامی نمونه‌ها یک لیتر بوده و توسط ظروف پلاستیکی در پوش دار استریل به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی جهرم منتقل گردیدند. در تمامی موارد، مشخصات کامل مربوط به هر نمونه که شامل محل نمونه‌برداری، نوع نمونه، تاریخ و ساعت در پرسش نامه تهیه شده‌ای ثبت شدند. نمونه‌ها قبل از انتقال به آزمایشگاه در یخچال ودر دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا از نابودی ویروس‌ها جلوگیری شود. نمونه‌های فاضلاب با دو روش رسوبی (Pellet) پیشنهاد شده توسط کارگر و همکاران در پژوهش‌های قبلی و روش تغییر یافته دو فازی (Two-phase) تغلیظ شدند (9-6). در این روش، ابتدا ظروف حاوی نمونه‌های فاضلاب را برای چند ساعت به صورت ثابت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار داده تا مایع رویی و رسوب فاضلاب از هم جدا شده و قابل تشخیص باشند و به راحتی جدا گردند. سپس 400 میلی‌لیتر از مایع رویی به یک ارلن 1000 میلی‌لیتری استریل انتقال داده شد و پلی‌اتیلن گلیکول 30% (PEG 6000) شرکت مرک، دکستران 20% (D5376) شرکت سیگما و NaCl 5 مولار شرکت مرک به ترتیب به میزان 6/133 گرم (W/V)، 20 گرم (W/V) و 16 میلی لیتر (V/V) به آن اضافه گردید. سپس ارلن حاوی محتویات فوق به مدت 1 ساعت بر روی شیکر مغناطیسی قرار داده شد. محتویات ارلن به داخل یک قیف جدا کننده 500 میلی لیتری ریخته شد و به مدت یک شب (Overnight) در دمای 4 درجه در یخچال نگهداری شدند. در مرحله بعد رسوب انتهایی (Bottom phase) و لایه تشکیل شده در بین دو فاز (Inter

Downloaded from iau-tmuj.ir at 15:56 +0330 on Sunday December 16th 2018

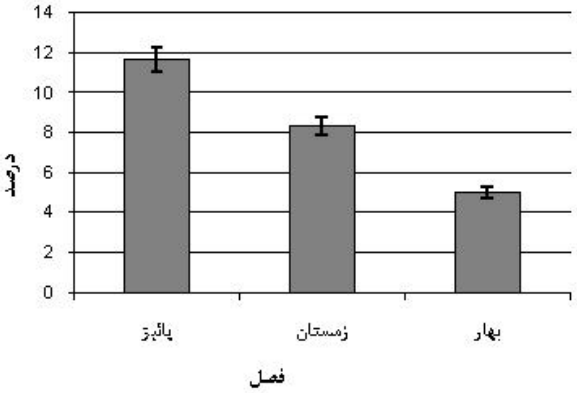
phase) جمع آوری شد. برای تغلیظ با روش Pellet، از باقی مانده فاضلاب به میزان 75 میلی لیتر به لوله‌های فالکون استریل منتقل و در دور 5000 rpm به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس لوله‌ها برای استفاده در مراحل بعدی در دمای 70- درجه نگهداری شدند. در مرحله آخر برای از بین بردن باکتری‌ها و قارچ‌ها به هر 4 میلی‌لیتر از نمونه‌های تغلیظ رسوبی و دو فازی، یک میلی‌لیتر کلروفرم خالص شرکت مرک اضافه شد و سپس در فریزر 70- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تمامی نمونه‌ها با هر دو روش یاد شده تغلیظ و پس از مخلوط شدن با یکدیگر، برای تشخیص روتاویروس‌های گروه A، از تکنیک EIA شرکت Generic Assay ساخت کشور آلمان استفاده شد. نمونه‌ها از قبل در دمای 70- درجه نگهداری شدند. این تست یک آزمایش سریع برای تشخیص روتاویروس انسانی گروه A است، که دارای یک پلیت 96 چاهکی به نام فاز جامد بوده که توسط آنتی‌بادی ضد پروتئین VP6 روتاویروسی کد شده است. با اضافه کردن نمونه‌ها آنتی‌ژن روتاویروسی به آنتی‌بادی چسبیده شد. پس از شست و شو، آنتی‌بادی ضد آنتی ژن ویروس به چاهک‌ها اضافه شد. پس از شست و شوی مجدد در صورتی که ویروس در نمونه حضور داشته باشد به آنتی بادی کف پلیت چسبیده و مجددا در این صورت آنتی‌بادی دوم مرحله دوم به آنتی‌ژن می چسبد. سپس آنتی‌بادی ضد آنتی‌بادی که به آنزیم هورس پراکسیداز متصل است به پلیت اضافه شد. این آنتی‌بادی در صورتی که مراحل قبل درست باشد، با آنتی‌بادی متصل شده و پس از اضافه کردن سوبسترای آنزیم پراکسیداز رنگ آبی به وجود می‌آید. طبق دستورالعمل کیت، آزمایش بر روی تمام نمونه‌ها صورت گرفت و نتایج بر اساس OD قرائت شده که توسط دستگاه قرائت کننده الایزا با طول موج 450 نانومتر و مقایسه Cut off به دست آمد و مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده با استفاده از نسخه هجدهم نرم افزار SPSS و آزمون‌های کای‌دو و دقیق فیشر تحلیل شدند. مرز معنی‌دار بر روی $p<0/05$ قرار داده شد.

یافته‌ها

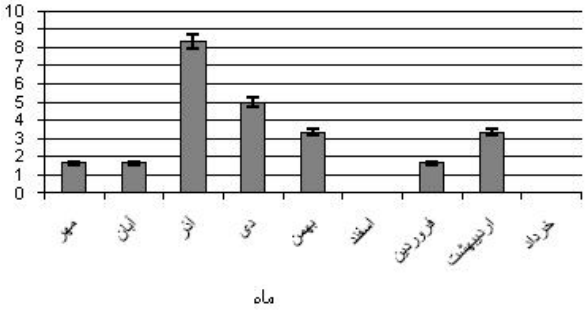
از مجموع نمونه های مورد بررسی در 15 نمونه (25%) روتاویرس انسانی گروه A شناسایی گردید. نتایج نشان داد که فراوانی روتاویروس های انسانی گروه A در قسمت‌های ورودی تصفیه فاضلاب (73/33%) بیشتر از سیستم‌های خروجی (26/67%) می‌باشد. تحلیل آماری نشان دادکه بین سیستم‌های ورودی و خروجی تصفیه فاضلاب و شناسایی روتاویروس‌ها ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($p=0/049$) (نمودار 1).



نمودار 1- توزیع فراوانی روتاویروس‌های شناسایی شده توسط روش الایزا بر اساس نوع فاضلاب



نمودار2- توزیع فراوانی فصلی و نسبت روتاویروس‌های شناسایی شده بر اساس تست الیزا



نمودار3- توزیع فراوانی و نسبت روتاویروس‌های شناسایی شده در ماه‌های مختلف بر اساس تست الیزا (%)

Downloaded from iau-tmuj.ir at 15:56 +0330 on Sunday December 16th 2018

بیشترین میزان جداسازی روتاویروس‌ها مربوط به فصول پائیز، زمستان و بهار به ترتیب با فراوانی 46/67%، 33/33% و 20% بود. نتایج آماری نشان داد بین جداسازی و فصل نمونه گیری اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p=0/004) (نمودار 2). همچنین بین شناسایی ویروس‌ها در ماه‌های آذر و فروردین (p=0/019) و آذر و اسفند (p=0/004) و آذر و خرداد (p=0/004) اختلاف معنی‌داری وجود داشت (نمودار 3).

بحث

ما در این پژوهش، با استفاده از هر دو روش تغلیظ Pellet و Two-phase موفق به جداسازی روتاویروس‌های گروه A شدیم. استفاده از این دو روش تغلیظ نشان دهنده کارایی این روش‌ها جهت جداسازی روتاویروس‌های انسانی در نمونه‌های فاضلابی می‌باشد. برای اولین بار روش تغلیظ Two-Phase در سال 2000 توسط Hovi و همکاران پیشنهاد شد. با این روش امکان تغلیظ نمونه‌های آب و فاضلاب به میزان 50 تا 100 برابر وجود دارد (10). در این روش، از مواد بسیار گران قیمت دکستران 20% جهت افزایش بازجذب و تجمع روتاویروس‌ها استفاده می‌شود، اما در روش Pellet پیشنهاد شده توسط کارگر و همکاران، نیاز به استفاده از مواد گران قیمت دکستران و پلی‌اتیلن گلیکول وجود ندارد (8). به همین دلیل ما در این پژوهش برای افزایش میزان جداسازی روتاویروس‌ها به صورت هم‌زمان از هر دو روش یاد شده استفاده و سپس با روش الیزا روتاویروس‌ها را شناسایی نمودیم.

از مجموع 48 نمونه فاضلاب تهیه شده از شهر بانکوک کشور تایلند که با استفاده از فیلتر غشایی دارای بار منفی (Negatively charged membrane) تغلیظ و به وسیله تکنیک الایزا بررسی شد، روتاویروس انسانی گروه A در 8% از نمونه‌ها شناسایی شد (11). همچنین مطالعات انجام شده در چین نشان می‌دهد که روتاویروس ها به صورت گسترده ای در انواع مختلف آب‌های این منطقه پراکنده‌اند. در این کشور با استفاده از SiO_2 در 100% نمونه‌های ورودی فاضلاب، 50% نمونه‌های خروجی فاضلاب، 90% آب‌های تیمار شده، 100% از آب‌های رودخانه، 8/31% کانال‌های آب و 3/19% آب‌های آشامیدنی روتاویروس‌ها شناسایی شده است. این مطالعه توانایی تشخیص روتاویروس‌ها را از نمونه‌های آب در شهرهای بزرگ نشان می‌دهد (12،11). در پژوهشی دیگر در کشور برزیل، 30 نمونه آب سطحی از نمونه‌های فاضلابی نواحی مختلف که شامل سیستم تصفیه فاضلاب انسانی شهری، روستایی و صحرایی بود، جمع آوری و با استفاده از فیلتر غشایی دارای بار منفی تغلیظ گردید. در بین ویروس‌های جدا شده روتاویروس‌ها فراوان‌ترین ویروس شناسایی شده قابل انتقال از آب با فراوانی 2/46% بودند (13). در مطالعه انجام شده در شهر کراچی پاکستان، 166 نمونه مدفوع از بیماران مبتلا به اسهال و 10 نمونه فاضلاب از نقاط مختلف جمع‌آوری شد و سپس روتاویروس‌های انسانی توسط تکنیک الایزا شناسایی شدند. در مطالعه اخیر، روتاویروس‌ها در 60% از نمونه‌های فاضلابی یعنی 6 منطقه از نواحی نمونه‌گیری تشخیص داده شدند. همچنین مشاهده شد که شیوع این بیماری به صورت قابل توجهی در کودکان و نوزادان بالای 5 سال (40%) بیشتر از بالغین (16/6%) می‌باشد (14). در اسپانیا بیشترین فعالیت روتاویروس‌ها به طور عمده‌ای (51%) در ماه‌های سرد سال گزارش شده است. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه و مقایسه آنها با کشورهای اروپایی همسایه می‌توان این گونه بیان کرد که حضور این ویروس در کشور های اروپایی از یک توزیع فصلی نسبتا مشخصی پیروی می‌کند. هرچند در برخی موارد محدود حضور این ویروس در بقیه ماه‌های سال نیز مشاهده شده است اما در مقایسه با نتایج اغلب پژوهش‌ها میزان آن بسیار ناچیز هستند (15). ما در پژوهش‌های قبلی، پایش بیمارستانی روتاویروس‌های انسانی را در شهرهای تهران (16)، جهرم (19-17) ، مرودشت (20)، شیراز (21) و برازجان (22، 23) را انجام دادیم. اما با توجه به اینکه این پژوهش برای اولین بار در ایران انجام شده است، برای مقایسه دقیق‌تر چگونگی چرخش محیطی روتاویروس‌ها نیاز به پژوهش‌های بیشتری وجود دارد. اما تا حدودی می‌توان بیان کرد که شیوع و پراکندگی روتاویروس های انسانی گروه A در شهر شیراز توزیع فصلی مشخصی دارد. بیماری‌های اسهالی در تمام طول سال مشاهده می‌شوند. اما بیماری‌های اسهالی روتاویروسی در فصل‌های پائیز تا اوایل بهار رخ داده و اکثر بیماری‌های اسهال ماه‌های گرم‌تر مربوط به عوامل باکتریایی‌اند. به دلیل شیوع بیشتر عفونت‌های ویروسی در فصول سردتر ما نیز در این پژوهش فصل‌های سردتر سال را برای پایش انتخاب نمودیم. بیشترین فراوانی روتاویروس‌های شناسایی شده در شیراز مربوط به فصل‌های پائیز (46/67%)، زمستان (33/33%) و بهار (20%) بود. این نتایج با یافته‌های قبلی ما در مورد پایش بالینی روتاویروس‌ها در شهر تهران هم‌خوانی دارد (16).

مطالعات ما بر روی پایش روتاویروس‌ها در نمونه‌های محیطی بیانگر حضور این ویروس روده‌ای در فاضلاب شهری و بیمارستانی است. نتایج ما در این پژوهش نشان داد که تفاوت

Downloaded from iau-tmuj.ir at 15:56 +0330 on Sunday December 16th 2018

تشخیص روتاویروس‌ها در دو نوع فاضلاب ورودی و خروجی نشان دهنده حضور کمتر روتاویروس‌ها بعد از عملیات تصفیه نسبت به قبل از عملیات تصفیه است. به علاوه نتایج ما نشان داد که تصفیه خانه شیراز نسبت به سیستم تصفیه بیمارستان نمازی شیراز کارکرد مناسب‌تری دارد. دلیل آن می‌تواند تصفیه ناقص فاضلاب بیمارستانی باشد که تنها در موارد اضطراری مرحله سوم تصفیه (کلرزنی) انجام می‌شود. اما با دیدی دیگر نیز می‌توان این گونه بیان کرد که روتاویروس‌ها پس اعمال فرآیندهای تصفیه، در آب‌های خروجی مورد استفاده برای آبیاری نواحی کشاورزی نیز باقی می‌مانند. این مساله می‌تواند زنگ خطر و هشداری برای مصرف کنندگان این گونه از آب‌ها باشد. عملیات کلرزنی در تصفیه خانه‌ها نیز صورت می‌پذیرد. اما به دلیل مقاومت ویروس‌ها در برابر کاهش pH و محیط‌های اسیدی، کلرزنی هیچ گونه تاثیری در نابودی روتاویروس‌ها ندارد (14).

نتایج ما در این پژوهش نشان داد که 26/67% از نمونه‌های مثبت روتاویروسی مربوط به نمونه‌های خروجی فاضلاب می‌باشد که این امر نشان دهنده مقاومت این ویروس روده‌ای در برابر تصفیه فاضلاب باشد. این واقعه می‌تواند هشداری برای سازمان‌های کنترل کیفیت آب و فاضلاب جهت تکمیل و یا حتی تغییر مسیرهای تصفیه سیستم‌های فاضلاب باشد. با توجه به شرایط آب و هوایی و عدم دسترسی کامل و لازم به سیستم‌های تصفیه فاضلابی پایش مرتب و برنامه‌ریزی شده محیطی در تمام نقاط کشور ما الزامی به نظر می‌رسد. در برخی از سیستم‌های تصفیه فاضلاب، علاوه بر مراحل متداول تصفیه از مواد نابود کننده ویروس ها مانند فرمالدئید نیز استفاده می‌شود. این ترکیب خاصیت عفونت‌زایی ویروس‌ها را با تاثیر بر اسیدنوکلئیک از بین می‌برد. با توجه به حساسیت ویروس‌ها نسبت به محیط‌های قلیایی در نظر گرفتن مرحله حذف ویروس‌ها در طی مراحل تصفیه آب و فاضلاب توصیه می‌شود.

نتایج این پژوهش نشان داد که سیستم‌های تصفیه فاضلاب شهری و بیمارستانی در شهر شیراز کفایت لازم را در حذف تمامی روتاویروس‌های انسانی ندارند. این مساله می‌تواند تائیدی بر چرخش روتاویروس‌های انسانی در محیط و فاضلاب‌های شهر شیراز باشد. بنابراین ضرورت پایش مداوم بیمارستانی و محیطی روتاویروس‌ها وجود دارد. بررسی چرخش محیطی روتاویروس‌ها می‌تواند گام مؤثری در تهیه و ساخت واکسن‌های مناسب جهت پیشگیری بیماری‌های حاصل از این ویروس روده‌ای باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از شرکت آب و فاضلاب شهرستان شیراز به دلیل حمایت‌های مالی و اجرایی کمال امتنان را دارند.

REFERENCES

1. Umesh P, Hummelman E, Bresee J, Miller M, Glass R. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9: 72-79.
2. Oragui JI, Mara DD. Simple Method for the detoxification of wastewater ultrafiltration concentrates rotavirus assay by indirect immunofluorescence. Appl Environ Microbiol 1989; 55: 401-405.
3. Kocwa-Haluch R, Zalewska B. Presence of human rotavirus in sewage and water. Polish J Environ Stud 2002; 11: 751-55.
4. Phan T, Khamrin P, Quang T, Dey SH, Takanashi S, Okitsu S, et al . Detection and genetic characterization of group A rotavirus strains circulating among children with acute gastroenteritis in Japan. ASM 2007; 81: 4645-53.
5. Díaz JR, Querales L, Caraballo L, Vizzi E, Liprandi F, Takiff H, et al. Detection and characterization of waterborne gastroenteritis viruses in urban sewage and sewage-polluted river waters in Caracas, Venezuela. Appl Environ Microbiol 2009; 75: 387-94.
6. Kargar M, Sadeghipour S, Tabatabaei H, Sarijlo M, Ghodsi M, Nategh R. Assessment of different method to remove organic inhibitors in order to create a sensitive method for direct surveillance of enteroviral infectious diseases in sewage specimens. Medical Science Journal of Islamic Azad University 2006; 16: 69-77. [In Persian]
7. Kargar M, Sadeghipour S, Zarei Mahmoudabadi B, Nategh R. Comparison of integrated cell culture-RT-PCR and cell culture method for detection of enteroviruses. Iranian Journal Public Health 2009; 38: 90-96.
8. Kargar M, Sadeghipour S, Nategh R. Environmental surveillance of non-polio enteroviruses in Iran. Virol J 2009; 6:149.
9. Kargar M, Sadeghipour S, Tabatabaee H, Nategh R. A comparative study of ICC-RT-PCR and cell culture methods for detection of enteroviruses in sewage. Journal of Microbial World 2009; 1: 15-22. [In Persian]

10. Hovi T, Stenvik M, Partanen H, Kangas A. Poliovirus surveillance by examining sewage specimens. Quantitative recovery of virus after introduction into sewerage at remote upstream location. Epidemiol Infect 2001; 127: 101-106.

11. Kittigul L, Reangsakulrach B, Siritantikorn S, Kanyok R, Utrarachkij F Luksamijarulkul P. Detection of polio, hepatitis A virus and rotavirus from Sewage and water samples. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2000; 31: 41-46.

12. Xiao Q, Li C, Wei L, Xiang M, Mei M, Zi J. Detection and distribution of rotavirus in municipal sewage treatment plants (STPs) and surface water in Beijing. J Environ Sci Health 2008; 43: 424-29.

13. Miagostovich M, Ferreira F, Guimarães F, Fumian T, Mendes L. Molecular detection and characterization of gastroenteritis viruses occurring naturally in the stream waters of Manaus, Central Amazônia, Brazil. Appl Environ Microbiol 2008; 47: 375-382.

14. Khan SA, Ahmed A, Khalid SM. Diarrhea due to rotavirus and probability of sewage contamination. Journal of Islamic Academy of Sciences 1992; 5: 142-44.

15. Sánchez-Fauquier A, Wilhelmi I, Colomina J, Cubero E, Roman E. Diversity of group A human rotavirus types circulating over a 4-year period in Madrid, Spain. J Clin Microbiol 2004; 42: 1609-13.

16. Zaraei-Mahmoodabadi B, Kargar M, Tabatabaei H, Sadeghipour S, Ghaemi H, Nategh R. Detection of annual incidence, age specific incidence rate and risk of rotavirus gastroenteritis among children in Iran. Iranian Journal of Virology 2009; 3: 39-42.

17. Kargar M, Akbarizadeh AR, Yaghobi R. Molecular and serological characterization of group A rotavirus isolates obtained from hospitalized children in Jahrom. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences 2009; 12: 15-21. [In Persian]

18. Kargar M, Akbarzadeh AR, Yaghobi R. Epidemiological features of rotaviral, bacterial, and parasitic infectious among hospitalized children in Jahrom (2006-2007). JQUMS 2011; 14: 14-41. [In Persian]

19. Kargar M, Akbarzadeh AR. Prevalence and molecular genotyping of group A rotaviruses in Iranian children. Indian J Virol 2011. (In Press)

20. Kargar M, Zare M. High frequency of mixed genotypes Rotavirus among children hospitalized with acute gastroenteritis. 2007-2008. Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine 2010; 15: 1-5. [In Persian]

21. Kargar M, Jafarpour T, Najafi A. Epidemiological survey of group A rotaviruses infection among children less than 5 years with acute diarrhea in Shiraz, 2006-2007. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences 2011. (In Press) [In Persian]

22. Kargar M, Najafi A, Zandi K, Hashemizadeh Z. Genotypic distribution of rotavirus strains causing severe gastroenteritis in children under 5 years old in Borazjan, Iran. Afr J Microbiol Res 2011; 5: 2936-41.

23. Kargar M, Najafi A, Zandi K, Barazesh A. Frequency and demographic study of Rotavirus acute gastroenteritis in hospitalized children of Borazjan city during 2008-2009. Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services 2011; 19: 94-103. [In Persian]

Downloaded from iau-tmuj.ir at 15:56 +0330 on Sunday December 16th 2018