



أماندا ديبيز، سوبرا تشاكرابورتى، ديفيد أ. ساك
من مشروع دوف (DOVE)
قسم الصحة العالمية
كلية الصحة العمومية، جامعة جونز هوبكنز بلومبرغ

13 آب/ أغسطس 2015

المراسلات: الدكتور ديفيد أ. ساك
الأستاذ بقسم الصحة الدولية
كلية الصحة العمومية، جامعة جونز هوبكنز بلومبرغ
615 ش. شارع وولف ش 5537
بلتيمور، مرييلاند 21205
dsack1@jhu.edu
Info@Stopcholera.org

ملاحظة حول هذه الوثيقة

هذه "ورقة عمل" تقدم وصفا لاستخدام اختبار يعتمد على شرائط الغمس لاكتشاف الضمة الكوليرية O1 من عينات البراز. وحيث إنها ورقة عمل، فإننا نتوقع حدوث تحسينات وتعديلات عليها في المستقبل. ومع ذلك، فإننا نعتقد أن الطرق الموصوفة هنا ستكون مفيدة للبرامج التي تحتاج إلى تأكيد حالات الإصابة بالكوليرا. ويرحب مشروع دوف (DOVE) والمؤلفون باقتراحاتكم من أجل تحسين هذه الطرق، أو بإرشاداتكم حول كيفية تنفيذ هذه المقاييسات. ويقدم هذا الدليل وصفا لاستخدام اختبار كريستال في سي (Crystal VC) لأن أغلب الدراسات الميدانية استخدمت هذا المنتج. وسيقوم مشروع دوف (DOVE) بتحديث هذا الدليل لإدراج الاختبارات السريعة الأخرى، مع اكتساب مزيد من الخبرات في استخدامها.

المحتويات

4.....	المقدمة: أهمية ترصد الكوليرا والحاجة إلى تحسين طرق الفحص المختبري في الميدان.
4.....	أهداف الترسد المختبري.
5.....	وصف لمجموعة اختبار شرائط الغمس وطريقة معدلة لاستخدامها.
6.....	كيفية اختبار عينات البراز باستخدام مقياس شرائط الغمس المغناة.
6.....	المواد والمستلزمات المطلوبة.
6.....	الإجراء.
8.....	التداول والتخلص الآمن من العينات.
8.....	الاستنتاج.
8.....	المراجع.

المقدمة: أهمية ترصد الكوليرا والحاجة إلى تحسين طرق الفحص المختبري في الميدان

يلعب الترصد دوراً حيوياً في مكافحة الفعالة للكوليرا. فالحاجة إليه قائمة لاكتشاف الحالات في مرحلة مبكرة من وقوع الفاشية، ولتوثيق مسار العدوى في الزمان والمكان. ويعتمد الترصد الرفيع الجودة على كلٍ من القدرة على اكتشاف الحالات المشتبهة من الكوليرا، وعلى تأكيد الحالات في المختبر. وينبغي أن يكون نظام الترصد قادراً على جمع وتحليل ونشر البيانات حتى يمكن تيسير التنبؤات الوبائية، والإعداد لتدابير مكافحة الكوليرا. ومع ذلك، فإن إنشاء نظام رفيع الجودة لترصد الأمراض ليس أمراً هيناً، ويمكن أن يكون مكلفاً وصعباً، ولا سيما في المناطق النائية بالبلدان النامية، حيث غالباً ما تحدث الكوليرا. ويشكل الترصد تحدياً كبيراً، وبخاصة في أعقاب حدوث كارثة طبيعية أو اضطرابات مدنية، عندما تتنافس أولويات أخرى على جذب الاهتمام.

ويشتمل أي نظام للترصد على كلٍ من استراتيجية وبائية، وعنصر مختبري لتأكيد الحالات. وتتمثل الطريقة المختبرية المعيارية المثبتة لتأكيد الحالات، في إجراء مزرعة برازية لعينة ممثلة لحالات الإصابة. ولكي تجرى المزرعة، يتم، بصفة عامة، جمع عينات البراز باستخدام المادة الوسيطة الناقلة كاري - بليز Cary - Blair، ومن ثم إرسالها إلى مختبر مرجعي مجهز تجهيزاً جيداً ويعمل به تقنيون مدربون، لمعالجتها⁽¹⁾. والطرق المختبرية المستخدمة في التعرف على الضمة الكوليرية في مختبر الميكروبيولوجي موضحة بالتفصيل في دلائل أخرى، ولن يتم التعرض لها بالوصف في هذا الدليل⁽²⁾. وتستخدم هذه الطرق بصورة فعالة أثناء وقوع الفاشيات، إلى جانب نظم الترصد الخافر. ومع ذلك، وبالإضافة إلى التكاليف المشمولة، فإن هناك قيوداً من حيث الاعتماد فقط على الطرق المعيارية في مختبر الميكروبيولوجي. وقد لا تكون المادة الوسيطة الناقلة متوفرة في المستشفى المحلي، كما أن نقل العينات إلى المختبر المرجعي، ويعد ذلك، إرسال التقارير مرة أخرى إلى المستشفى المعالج يستغرق وقتاً. وعادة ما يكون هناك فاصل زمني مدته أسبوع أو حتى أسبوعان من وقت الحصول على العينة وحتى تلقي التقرير من المختبر.

ويجرى الآن استخدام طرق تكميلية بغرض استكمال، بل وفي بعض الحالات، الحلول محل الطرق الميكروبيولوجية المعيارية. ومن بين هذه الطرق الاختبارات التشخيصية السريعة، التي يمكن استخدامها في المرفق الصحي المحلي، واختبارات تفاعل سلسلة البوليميرات لتحديد الحمض النووي (الدنا) للضمة الكوليرية في عينات البراز. واختبارات تفاعل سلسلة البوليميرات مفيدة، وقد تصبح هي الطريقة المعيارية الذهبية، غير أنها ماتزال في الوقت الحاضر تُستخدم للأغراض البحثية في المقام الأول، وليس ممكناً مواءمتها بسهولة لتلائم الاستخدام السريري. وقد يتغير ذلك في المستقبل، بعد أن يصبح استخدام اختبارات تفاعل سلسلة البوليميرات متاحاً على نطاق واسع. ونحن، في هذا الدليل، نقدم وصفاً لطريقة بسيطة منخفضة التكاليف لتأكيد حالات الإصابة بالكوليرا، باستخدام اختبار سريع للكوليرا قائم على شرائط الغمس، لاكتشاف الضمة الكوليرية من عينات براز مرضى يُشتبه في إصابتهم بالكوليرا.

أهداف الترصد المختبري

(1) كبديل للمادة الوسيطة الناقلة كاري - بليز، يستخدم البعض طريقة ورقة الترشيح، حيث توضع ورقة الترشيح المتسخة في قارورة مبردة مع إضافة ثلاث نقط من محلول ملحي في القارورة، ثم ترسل القارورة إلى المختبر في درجة حرارة الغرفة (على افتراض أن درجة الحرارة أقل من 40 مئوية). وتُحفظ هذه الطريقة الخاصة بورقة الترشيح المبللة، البكتريا بصورة أقل جودة من طريقة كاري - بليز، لكن يمكن استخدامها إذا لم تكن طريقة كاري - بليز متاحة.

(2) لمزيد من المعلومات: طرق مختبرية لتشخيص الديسنتاريا والكوليرا الوبائية. مراكز مكافحة الأمراض والوقاية منها، 1999،

<http://www.cdc.gov/cholera/pdf/Laboratory-Methods-for-the-Diagnosis-of-Epidemic-Dysentery-and-Cholera.pdf>

قد تكون هناك حاجة إلى الاكتشاف والتأكيد المختبري لحالات الإصابة بالكوليرا وذلك لهدف واحد أو أكثر. ومن بين هذه الأهداف:

- الترصّد من أجل التعرف المبكر على فاشيات الكوليرا
- رصد المسار الذي تتخذه فاشية ما
- اكتشاف "البقع الساخنة للكوليرا"
- الترصّد الروتيني لحالات الكوليرا في المناطق الموطونة لتحديد معالم الوضع الوبائي لها
- اكتشاف المجموعات الأشد عرضة للمخاطر
- رصد مدى فعالية برامج الوقاية من الكوليرا

وكوضع مثالي، ينبغي أن يحدث الترصّد الميكروبيولوجي، كما هو موضح في هذا الدليل، في إطار نظام ترصّد وبائي حتى يمكن استقراء النتائج على فئات سكانية أكبر. وهناك معلومات إضافية عن الترصّد موجودة في مجموعة أدوات وقف الكوليرا (StopCholera Toolkit)

وصف لمجموعة شرائط الغمس المباشرة والمُغفأة

تستفيد طريقة الاختبار القائمة على شرائط الغمس، الموضحة في هذا الدليل، من مجموعة اختبارات كريستال في سي (161C101-10, Span Diagnostics, Surat, India)، وهي تمثل الاختبار السريع لتشخيص الكوليرا، الأكثر استخداماً في الميدان. وهذا الاختبار الذي يكلف الواحد منه 1.90 دولاراً أمريكياً، عند شرائه بكميات كبيرة، يُستخدم مضادات حيوية أحادية النسيلة، نوعية للجزيئات عديدة السكاريد الشحمي للزمرات المصلية للضمة الكوليرية O1 و O139، في شريط غمس ذي استشراب مناعي كروماتوغرافي، يتدفق عمودياً. ويبلغ مستوى اكتشاف الجزيئات عديدة السكاريد الشحمي لهذه الأشرطة 10 نانوغرام/مل، بالنسبة للضمة الكوليرية O1، و 50 نانوغرام/مل، بالنسبة للضمة الكوليرية O139. وقد أوضحت دراسة أجريت حديثاً أن الحد الأدنى القابل للاكتشاف لمجموعة الأشرطة كان 10⁶ وحدة تشكيل مستعمرات، بالنسبة للضمة الكوليرية O1/مل، و 10⁷ وحدة تشكيل مستعمرات، بالنسبة للضمة الكوليرية O139 / مل [1]. وقد وجد مختبرنا أن نحو 10⁷ وحدة تشكيل مستعمرات / مل هي ما يلزم لكي تعطي كلتا الزمرتين المصليتين اختباراً إيجابياً [2].

ولاختبار كريستال في سي خطوط منفصلة للنمط المصلي O1 و O139. ولم يكن متوفراً في الماضي سوى خط النمط المصلي O1 فقط، وهناك خطط لتسويق هذا المنتج مرة أخرى. واختبار الخط الواحد للنمط المصلي O1 هو المفضل، حيث إن خط النمط المصلي O139 لا يراه أحد أبداً تقريباً، ولكن قد تحدث نتائج إيجابية زائفة مع خط النمط المصلي O139، وذلك قد يسبب إرباكاً.

ولكل شريط غمس خط للمراقبة لضمان قدرة الاختبار على اكتشاف المستضد. ويمكن تخزين المجموعة في درجة حرارة تتراوح بين 4 و 30 مئوية، وفي الظروف الرطبة. وهذا الاختبار ليس معتمداً من قبل إدارة الأغذية والأدوية الأمريكية، غير أنه يُسوّق في الهند، واستُخدم في عدة دراسات ميدانية. وبحسب تقارير منشورة، فإن شرائط الغمس تتمتع بحساسية بنسبة 90% تقريباً، فيما تتراوح نسبة النوعية بها بين نحو 60 و 70%، عندما تستخدم مباشرة على عينات المرضى البرازية [3] ،

[4]. وتشير نسبة النوعية المنخفضة نسبياً، إلى أن هناك حاجة إلى تحسين الإجراء الخاص بالاختبار للتحقق من أن النتيجة الإيجابية للاختبار تمثل حالة إيجابية حقيقية. و قد يؤدي إعلان وقوع فاشية، ولا سيما في مناطق لم تحدث فيها حالات معروفة للكوليرا، عندما لا تكون هناك كوليرا في الواقع، قد يؤدي إلى تكريس الموارد بشكل غير ملائم. وحتى في كثير من المناطق الموطونة بالكوليرا، فإن النوعية المنخفضة تعطي قيمة تنبؤية إيجابية تقل عن 50%.

ولا تُعرف الأسباب وراء النتائج الإيجابية الزائفة للاختبار السريع عندما يستخدم مباشرة مع عينات البراز. وقد تحتوي عينات البراز، في بعض الأحيان، على مواد (بخلاف ضمة الكوليرا) والتي تتفاعل تصاليباً مع الأجسام المضادة، وتظهر على الاختبار، كخط إيجابي. وفي حالات أخرى، قد لا يتبع التقنيون، ممن يفترضون إلى التدريب أو الخبرة الكافية، التعليمات الخاصة بالاختبار، الموجودة مع المنتج، بالدقة المطلوبة. فهم قد يعززون رؤية خط باهت إلى وجود حالة إيجابية، أو إنهم قد يقومون بتقييم الاختبار بعد انقضاء الفترة الزمنية المحددة البالغة خمس عشرة دقيقة. وفي حالات أخرى، قد يعطي شريط الغمس قراءة حقيقية لعينة لم تكتشفها المزرعة، لكون المريض فيها قد أخذ مضادات حيوية. وفي هذا الموقف الأخير تكون النتيجة التي "تبدو إيجابية زائفة" هي في الواقع نتيجة إيجابية حقيقية، رغم أنها لم تتأكد من خلال المزرعة. ومن المرجح، في المستقبل، أن يتم اعتبار اختبار تفاعل سلسلة البوليميرات، الطريقة المعيارية الذهبية التي تقارن مقابلها نتائج الاختبارات الأخرى.

الاختبار المباشر: عندما يستخدم الاختبار مباشرة مع البراز الإسهالي، توضع قطرتان من البراز السائل داخل قارورة، مع العازل الموجود مع المجموعة، ومن ثم يمزجان معاً. وتوضع أربع قطرات من مزيج البراز والعازل في أنبوب اختبار، متوفر مع المجموعة، ثم يوضع بعد ذلك شريط الغمس، عمودياً، داخل الأنبوب. ويمكن ملاحظة السائل داخل أنبوب الاختبار يتحرك على شريط الغمس إلى الأعلى. فإذا لم تكن ضمة الكوليرا موجودة، فسوف يظهر خط واحد (مراقبة)، في غضون بضعة دقائق. أما إذا كانت ضمة الكوليرا موجودة، فسوف يظهر خطان على الشريط. وستكون الخطوط ظاهرة خلال خمس عشرة دقيقة، وبوجه عام، خلال خمس دقائق.

الاختبار المُغني: الطريقة المُغنية (أو المؤكدة) مشابهة للطريقة المباشرة، فيما عدا أن كمية صغيرة من عينة البراز توضع أولاً في مرق زرع من مياه بيتونية قلبية، ويتم احتضانها لمدة 5 إلى 18 ساعة. وبعد الاحتضان في درجة حرارة 20 - 40 مئوية، توضع 4 قطرات داخل أنبوب اختبار، مع وضع شريط الغمس عمودياً داخل الأنبوب. فإذا كانت ضمة الكوليرا موجودة، سيظهر خطان، بما في ذلك خط المراقبة وخط الاختبار. وضمة الكوليرا تنمو بشكل جيد ضمن طيف عريض من درجات الحرارة، حتى إن وجود حضانة ليس ضرورياً في معظم البلدان الاستوائية، حيث تحدث الكوليرا. ومع ذلك، لا ينبغي أن تتجاوز درجة الحرارة 40 مئوية. ولذلك، ففي المناطق الحارة جداً، قد تكون هناك حاجة إلى وسائل لإبقاء درجة الحرارة دون الـ 40 مئوية.

وعند احتضان عينة البراز في المياه البيبتونية القلبية، تخفف المادة المتفاعلة (إذا كانت موجودة) تخفيفاً شديداً، لدرجة لا تعود معها قادرة على إحداث خط إيجابي زائف يظهر على شريط الغمس. وفي الوقت ذاته، تنمو بكتريا ضمة الكوليرا ويتم تضخيم المستضد عديد السكاريد الشحمي. ونتيجة لهذين العاملين، يكون الاختبار أقل احتمالاً لأن يعطي نتيجة إيجابية زائفة. وينبغي أن يعطي نتيجة أكثر دقة. وعندما استُخدم الاختبار بهذا الأسلوب، بلغت نسبة النوعية فيه أكثر من 99% [5].

ويخضع قرار استخدام الاختبار المباشر أو الاختبار المُغني لاعتبارات لوجستية وعلمية. فالاختبار المباشر يوفر نتيجة سريعة جداً، والتي قد تكون مفيدة بصفة خاصة للمرضى الذين يصلون في فترة ما بعد الظهر وفي المساء. فإذا جاءت النتيجة

سلبية، فإن الاختبار موثوق بصفة عامة. أما إذا كانت نتيجة الاختبار إيجابية، عند إجرائه على عينة البراز مباشرة، فينبغي متابعة ذلك باختبار تأكيدي، سواء أكان مزرعة أم اختباراً مُغنيً.

وطريقة الإغناء بالمياه الببتونية القلوية، عبارة عن إجراء منطقي يركز على مفاهيم ميكروبيولوجية سليمة، لكنها ماتزال تخضع للاختبارات الميدانية من أجل توثيق درجة الحساسية والنوعية لديها، وذلك في مجموعة متنوعة من المواقع. وفضلا عن ذلك، وكما هو الحال مع المزرعة، فإنها ماتزال تعتمد على قدرة البكتريا على النمو في المياه الببتونية القلوية، والتي قد لا تحدث إذا كان المريض قد أخذ مضادات حيوية، وقد ينتج عن ذلك أن يعطي الاختبار نتيجة إيجابية زائفة.

وإذا كانت هناك تساؤلات حول مدى دقة الاختبار، أو حول الحاجة لتحديد حساسية المضادات الحيوية للسلسلة المسببة للفاشية، فيمكن إرسال بعض العينات إلى مختبر مركزي لإجراء مزرعة عليها باستخدام المادة الوسيطة الناقلة (مثلا: المادة الوسيطة كاري - بلير). ويمكن أخذ العينات المرسله إلى المختبر المركزي، إما من عينة البراز مباشرة، أو من العينة المغناه بالمياه الببتونية القلوية التي تكون قد أعطت النتيجة الإيجابية في اختبار شريط الغمس. ويكون تأكيد النتيجة الإيجابية لاختبار شريط الغمس أمرا مهما بصفة خاصة، عند محاولة تأكيد الحالات في منطقة ليس معروفا أن بها كوليرا.

كيفية اختبار عينات البراز باستخدام مقايضة شرائط الغمس المغني

المواد والمستلزمات المطلوبة

- عينة برازية أو مسحة شرجية
- ملصقات لتحديد هوية العينات
- مسحات خشبية ذات رؤوس قطنية معقمة تستخدم لتخصيب عينات البراز في المياه الببتونية القلوية
- رف أنابيب لتثبيت أنابيب المياه الببتونية القلوية
- أنابيب بكل منها 5 مل مياه ببتونية قلووية (الحجم ليس إشكاليا)
- مجموعة شرائط غمس كريستال سي في
- أنبوب من المادة الوسيطة الناقلة كاري - بلير (أو عينة ورق ترشيح محلول ملحي)
- قفازات لاتيكس وحيد الاستخدام
- أكياس للمواد التي تشكل مخاطر بيولوجية، أو وسائل أخرى للتخلص المأمون من المواد الخطرة
- كلور / مبيض (إذا كان يستخدم لإزالة التلوث)

الإجراء

يمكن إجراء الاختبار إما على عينات براز أو مسحات شرجية لمريض يحضرون إلى المرفق الصحي من أجل المعالجة من إسهال مائي حاد (ينبغي ألا يكون قد تمت معالجة عينة البراز بالكلور). ويتم إدخال مسحة قطنية بها كمية كافية من البراز، داخل أنبوب به مياه ببتونية قلووية، ثم تكسر العصا الخشبية بعد ذلك، وتترك المسحة القطنية مغمورة في المياه الببتونية القلوية. وينبغي عندئذ وضع أنبوب المياه الببتونية القلوية في مكان مأمون (حضانة في درجة حرارة 35 - 37 مئوية، إذا كان ذلك متاحا، ولكن يمكن أن تتراوح درجة الحرارة بالحضانة بين 20 - 40 مئوية) لمدة ست ساعات (بمعدل يتراوح بين خمس وثمان ساعات).

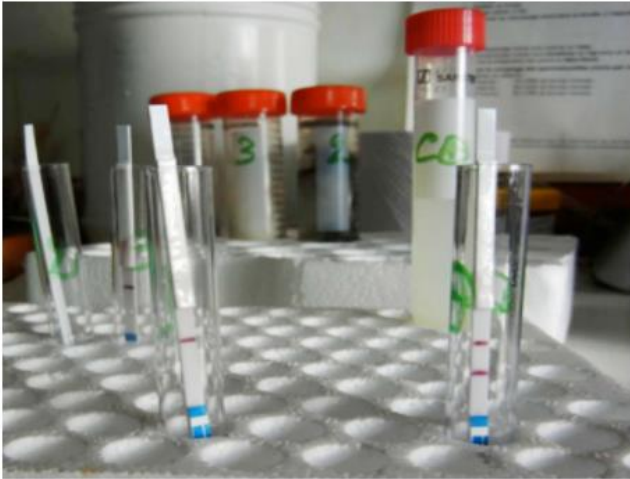
وبعد فترة الاحتضان، توضع أربع قطرات من المياه البيبتونية القلوية داخل أنبوب الاختبار الموجود في المجموعة، ثم يوضع شريط غمس كريستال في سي داخل الأنبوب، ثم يترك الشريط داخل الأنبوب ويلاحظ ما إذا كانت هناك خطوط تظهر على خط المراقبة وكذلك على خط الاختبار كما هو موضح في الشكل رقم 1. وسيصبح الخط الإيجابي مرئياً، بوجه عام، في غضون خمس إلى عشر دقائق. ولا ينبغي تسجيل الخطوط التي تظهر بعد انقضاء 15 دقيقة.

وللتحقق من صحة اختبار شريط الغمس، ينبغي إرسال بعض العينات الموجبة إلى مختبر ميكروبيولوجي لتأكيد النتيجة، عن طريق عمل مزرعة باتباع الإجراء الموضح في الشكل رقم 2. ويوضح هذا المخطط أنه عند وجود نتيجة إيجابية، يمكن إرسال العينة البرازية الأصلية، وكذلك عينة من المياه البيبتونية القلوية إلى المختبر لعمل مزرعة، بوضع كمية صغيرة من العينة في المادة الوسيطة الناقلة كاري - بلير. وينبغي جمع هذه العينات وإرسالها بسرعة إلى المختبر، غير أنه بمجرد وجودها في المادة الوسيطة الناقلة، فإنها تكون صالحة لمدة تصل إلى أسبوع أو أكثر.

ويعتمد عدد العينات التي ترسل إلى المختبر على الوضع. فأتثناء وقوع فاشية مؤكدة، تكون بضع عينات فقط هي التي ترسل لتأكيد التشخيص، ولإختبار حساسية المضادات الحيوية. أما إذا حدثت فاشية إسهال غير متوقعة، أو إذا كانت هناك حالات متقطعة يتم اكتشافها، فينبغي تأكيد نسبة أكبر من الحالات الإيجابية (10% - 20%) عن طريق المختبر، للتحقق من أن النتائج الإيجابية لاختبار هذه العينات ليست إيجابية زائفة.

الشكل 1. الخط العلوي على كل عينة هو خط المراقبة، والخط السفلي هو الخط الإيجابي إذا لم يكن خط المراقبة مرئياً، يكون الاختبار غير

صالح



عينة سلبية على الجانب الأيسر. العينة الإيجابية على الجانب الأيمن



عينة إيجابية

الشكل 2. إجراء لاكتشاف الضمة الكوليرية O1 من عينة براز باستخدام طريقة شرائط الغمس



التداول والتخلص الآمن من العينات

يرجى الملاحظة أن العينات والمياه الببتونية القلوية مواد بيولوجية خطيرة، وينبغي التخلص منها بطريقة آمنة، وفقاً للإجراءات المحلية المتعلقة بنفايات المستشفيات الملوثة. وينبغي مراعاة الاحترازات العالمية المتبعة في المختبرات، بما في ذلك استخدام الملابس الواقية وإزالة تلوث المواد بالطريقة الصحيحة. فإذا كان يتعين شحن العينات أو مشتقاتها إلى مختبرات أخرى، فينبغي اتخاذ الاحترازات اللازمة لضمان النقل الآمن للمواد باستخدام أساليب التعبئة والتغليف الموصى بها والخاصة بالعينات من الفئة ب. وهذا يشمل نظام التعبئة والتغليف الثلاثي مع وجود وعاء واق من الماء ومانع للتسرب، توجد بداخله العينة. ويحيط بهذا الوعاء مادة ماصة في حال حدث تسرب، ثم يتم احتواء العبوة الأولية داخل وعاء ثان واق من الماء ومانع للتسرب. ويمكن نقل عدة عينات مغلقة في أوعية أولية في نفس الوعاء الثانوي. وأخيراً تكون العبوة الثالثة هي عبوة الشحن الخارجية، التي يمكن أن تحمي المحتويات الداخلية من التلف أثناء نقلها.

الاستنتاج

للتقنية المعدلة لشرائط الغمس من أجل اكتشاف الضمة الكوليرية O1، الموضحة هنا عدة مزايا، ألا وهي:

- 1- انخفاض التكلفة
- 2- سهولة الاستخدام، و
- 3- تقليل احتمال ظهور نتائج إيجابية زائفة بالمقارنة مع الطرق الأخرى.

لذلك، فإن هذه الطريقة الزهيدة التكاليف والبسيطة لاكتشاف الضمة الكوليرية O1، باستخدام تقنية شرائط الغمس المعدلة، الموضحة في هذا الدليل، لديها الإمكانية للتحسين، بدرجة كبيرة، من جدوى وموثوقية ترصد الكوليرا في البلدان التي تكون في أشد الحاجة إليها.

المراجع

1. Mukherjee P, Ghosh S, Ramamurthy T, Bhattacharya MK, Nandy RK, Takeda Y, et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic dipstick kit for diagnosis of cholera emphasizes its outbreak utility. Japanese journal of infectious diseases 2010,63:234-238.
2. Chakraborty S, Alam M, Scobie HM, Sack DA. Adaptation of a simple dipstick test for detection of *Vibrio cholerae* O1 and O139 in environmental water. Front Microbiol 2013,4:320.
3. Ley B, Khatib AM, Thriemer K, von Seidlein L, Deen J, Mukhopadhyay A, et al. Evaluation of a Rapid Dipstick (Crystal VC) for the Diagnosis of Cholera in Zanzibar and a Comparison with Previous Studies. PLoS One 2012,7:e36930.
4. Mukherjee P, Ghosh S, Ramamurthy T, Bhattacharya MK, Nandy RK, Takeda Y, et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic dipstick kit for diagnosis of cholera emphasizes its outbreak utility. Jpn J Infect Dis 2010,63:234-238.
5. The decision about whether to use the direct or the enriched test depends on logistic and scientific considerations. The direct test provides a very rapid result which may be

especially helpful for patients arriving in the afternoon and evening. If the result is negative, the test is generally reliable. However, if the test is positive when tested with the stool specimen directly, this should be followed up with a confirmatory test; either a culture or an enriched test.

6. Debes AK, Ateudjieu J, Guenou E, Ebile W, Sonkoua IT, Njimbria AC, et al. Clinical and Environmental Surveillance for *Vibrio cholerae* in Resource Constrained Areas: Application During a 1-Year Surveillance in the Far North Region of Cameroon. *Am J Trop Med Hyg.* 2016.