مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

ارزیابی فراوانی باکتری های *ویبریو کلرا* جدا شده از آب و سبزیجات و حضور ژن های حدّت و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در استان قم

سمیه کرمانی[۱]، مجتبی بنیادیان[۲*]، سعید شمس[۳*]، حمداله مشتاقی[۲]

۱. دانشجوی دکتری تخصصی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهر کرد، شهرکرد، ایران. نشانی پستی:استان چهارمحال بختیاری، شهرکرد، بلوار رهبر، دانشگاه شهر کرد، دانشکده دامپزشکی گروه بهداشت

۲*. استاد، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهر کرد ، شهرکرد، ایران، نشانی پستی: استان چهارمحال بختیاری، شهرکرد، بلوار رهبر، دانشگاه شهرکرد، دانشکده دامپزشکی گروه بهداشت،

۳*. استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

٤. استاد، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱٤۰۳/۱/٦

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۳/۳/۲۳

کلمات کلیدی:

ویبریو کلرا non-O1،

ژن های حدّت،

مقاومت آنتی بیوتیکی،

آب،

سبزیجات

DOI:10.22034/FSCT.21.154.128.

* مسئول مکاتبات:

boniadian@sku.ac.ir

sshams@muq.ac.ir

چکیده

ویبریو کلرا یکی از پاتوژن های مهم انسانی است که از طریق آب و غذای آلوده منتقل می شود. بیماری های ناشی از *ویبریو کلرا* در استان قم به دلایل شرایط آب و هوایی خاص اندمیک است. این مطالعه با هدف بررسی میزان شیوع *ویبریو کلرا* در آب و سبزیجات استان قم، حضور ژن های حدّت و بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها انجام شد. در یک دوره دو ساله (۱٤۰۰-۱۳۹۹) ، ۱۲۰نمونه آب های کشاورزی(۷۰ نمونه) و سبزیجات (۵۰ نمونه) تولید شده در استان قم جمع آوری شدند. نمونه ها روی محیط اختصاصی کشت داده شدند. کلنی های مشکوک رنگ آمیزی گرم شده و آزمون های بیوشیمیایی روی آنها انجام شد و با آزمایش سرولوژی، سروتیپ *ویبریو کلرا* شناسایی شد. سپس بررسی حضور ژن های حدّت با روش PCR و همچنین ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه ها با روش انتشار در آگار بررسی شد. بطور کلی از ۱۷ نمونه (۱٤/۱٦٪) باکتری *ویبریو کلرا* جدا شد که همه non-O1 بودند. میزان آلودگی آب و سبزیجات به این باکتری به ترتیب ۱٤/۲۸٪ (۱۰مورد) و ۱٤/۰۰٪ (۷ مورد) بود. در ارزیابی ملکولی، میزان فراوانی ژن های حدّت شامل *toxR* (۲۳ /۸۸٪)، *rtxA* (۵۸/۸۲٪)، *hlyA* (٤۷/۰۵٪)، *chxA* (۵/۸۸٪) بود، و ۱۰۰ ٪ جدایه ها فاقد ژن های*ctxA*، *ace* و *tcpA*بودند. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به آمپی سیلین و آموکسی سیلین (۳٤/۲۹ ٪) و سپس به ترتیب سفوروکسیم (۱۷٪/٤٦)، ایمی پنم (۱۱٪/۷٦)، سفوکسیتین و تری متوپریم-سولفومتوکسازول (۵/۸۸٪) بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که *ویبریو کلرا* non-O1 در آب و سبزیجات استان قم وجود دارد. لذا به عنوان یک منشاء مهم ایجاد بیماری برای انسان، نظارت بهداشتی مستمر بر آب و سبزیجات و ضد عفونی مناسب این مواد غذایی دارای اهمیت زیادی است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]

۱-مقدمه

ویبریو کلرا[1] باکتری گرم منفی، خمیده، بی هوازی اختیاری است که اساسا در اکوسیستم های آبی وجود دارد و از طریق خوردن آب و غذای آلوده می تواند باعث بیماری وبا شود. تا به امروز، هفت همه گیری وبا در جهان ثبت شده است [۱]. بر اساس گزارش های منتشر شده توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO[2])، سالانه ۳ تا ۵ میلیون مورد وبا و بیش از ۱۴۰۰۰۰ مرگ و میر ناشی از این بیماری در سراسر جهان تخمین زده می شود [۳-۱].

ویبریو کلرا را می توان بر اساس تنوع در ساختار آنتی ژن Oلیپوپلی ساکارید دیواره سلولی به بیش از ۲۰۰ سروتیپ مختلف تقسیم بندی کرد. سروتیپ O1 به ۲ بیوتیپ کلاسیک و التور و ۳ سروگروه اینابا، اوگاوا و هیکوجیما طبقه بندی می شود. سویه های متعلق به سروگروه های دیگر تحت عنوان *ویبریو کلرا* non-O1, non-O139 (NOVC[3]) دسته بندی می شوند. در ابتدا این سویه ها به دلیل عدم وجود ژن های توکسین بیماری زای *ctx* و*tcpA* غیر سمی و کم اهمیت بودند [٤]. این سویه های غیر توکسین زا عامل بیماری های اپیدمیک نیستند اما به صورت همه گیری های کوچک و پراکنده در گذشته گزارش شده اند [۵].

باکتری ها و ویروس ها به عنوان عوامل اصلی ایجاد اسهال شناخته شده اند و موارد زیادی از اسهال ناشی از آنها گزارش شده است [۹-٦]. در طول دو دهه گذشته گزارشاتی مبنی بر حضور سویه های *ویبریو کلرا* non-O1, non-O139 با ژن‌های توکسین زا در بیماران مبتلا به اسهال و سایر عفونت های تهاجمی ارائه شده است [۱۰, ۱۱]. مطالعات اخیر نشان داده اند که ژن های حدّت و همولوگ های آن ها علاوه بر سویه های بالینی در سویه های محیطی *ویبریو کلرا* نیز منتشر شده اند [۱۲, ۱۳]. اگر چه علت بقای بیشتر *ویبریو* های محیطی حاوی ژن های حدّت نسبت به سایر سویه های محیطی شناخته نشده است اما این احتمال می رود که این سویه های محیطی حاوی ژن های حدّت، منشاء سویه های پاتوژنیک باشند یا به عبارتی در فرآیند انتقال ژن که منجر به ایجاد سویه های پاتوژنیک می شود نقش داشته باشد[۱٤]. NOVC اغلب واجد ژن های ایجاد کننده گاستروانتریت ملایم تا حاد هستند [۱۵]. در اکوسیستم های آبی سویه های پاتوژن و غیر پاتوژن *ویبریو کلرا* non-O1, non-O139 وجود دارد و آندمیک بودن وبا در یک منطقه به ذخایر محیطی آن منطقه بستگی دارد [۱٦]. سویه های NOVC عمدتا فاقد توکسین وبا (CT[4]) و توکسین هم تنظیمی با پیلی (TCP[5]) هستند و با مکانیسمی متفاوت از *ویبریو کلرا* O1 یا O139 سبب بیماری می شوند. علاوه بر دو فاکتور حدّت اصلی سایر فاکتور های مربوط به بیماری زایی در *ویبریو کلرا* شامل پروتئین تنظیمی ToxR[6] (فعال کننده رونویسی ژن های مرتبط با CT و TCP)، انتروتوکسین کمکی وبا (ace[7])، توکسین های تکرار شونده (*rtx*[8]*CABD*) و همولایزین (*hlyA*) هستند و منجر به بیماری اسهالی می شوند، در *ویبریو کلرا* non-O1, non-O139 توکسین های خارج سلولی ایجاد کننده منفذ (RtxA)، همولایزین (hlyA)، انتروتوکسین مقاوم به حرارت (stn[9]) و توکسین کولیکس (chxA[10]) در پاتوژنز این سویه ها مهم هستند [۱۷].

هیدراتاسیون درمانی درمان اولیه وبا است هر چند در موارد شدید بیماری وبا و در درمان عفونت های خارج روده های آنتی بیوتیک هایی توصیه شده اند. ظهور پاتوژن های مقاوم به آنتی بیوتیک به یک مسئله جدی بهداشت جهانی تبدیل شده است. اگرچه آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی *ویبریو کلرا* (AST[11]) در گذشته به دلیل مقاومت کم *ویبریو کلرا* به آنتی بیوتیک های رایج پیشنهاد نشده بود اما امروزه مواردی از بروز مقاومت در *ویبریو کلرا* non-O1, non-

[1] *Vibrio cholerae*
[2] World Health Organization
[3] Non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae*
[4] Cholera toxin
[5] Toxin coregulated pilus
[6] ToxR regulatory protein
[7] Accessory cholera enterotoxin
[8] Repeats in toxin A
[9] Non-O1 heat-stable enterotoxin
[10] Cholix toxin
[11] Antibiotic susceptibility testing

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]
[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]

O139 به آمینوگلیکوزید ها، تتراسایکلین، کلرامفنیکل و تری متوپریم-سولفامتوکسازول، آمپی سیلین و کارباپنم ها گزارش شده و انجام تست حساسیت آنتی بیوتیکی را ضروری می سازد [۱۸].

به منظور تشخیص و ردیابی نحوه ایجاد *ویبریو کلرا* های پاتوژنیک از انواع غیرپاتوژنیک لازم است سویه های حدواسط با قدرت پاتوژنیک کمتر نسبت به سویه های اپیدمیک، شناسایی شوند. از آنجایی که وبا یک بیماری منتقله از آب است، شناسایی سویه های محیطی و بررسی ژن های حدّت در آنها به منظور شناسایی منبع سویه های ایجاد کننده اپیدمی های وبا و یا گاستروانتریت های پراکنده و بررسی الگوی مقاومت آنها به آنتی بیوتیک حائز اهمی□ّت است. هر ساله به خصوص در فصول گرم مواردی از بیماری توسط *ویبریو کلرا* درمناطق جنوبی و مرکزی ایران بخصوص استان قم گزارش می شود. به این منظور در این مطالعه وجود ژن های حدّت و مقاومت به آنتی بیوتیک در سویه های محیطی *ویبریو کلرا* جدا شده از آب ها و سبزیجات شهر قم و مناطق روستایی اطراف آن، بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

این مطالعه درکمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه شهرکرد با کد IR.SKU.REC.1401.029 مورد بررسی و تایید قرارگرفت.

۲-۱- جمع آوری نمونه ها

در این مطالعه تعداد ۱۲۰ نمونه شامل آب های سطحی و کشاورزی (۷۰ نمونه) و سبزیجات (۵۰ نمونه) در فصول بهار و تابستان سال های ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۰ از شهر و مناطق روستایی قم (که تعداد بیشتری از موارد مثبت *ویبریو کلرا* non-O1سابقا از آن جدا شده بود) جمع آوری شدند (۲-۱ لیتر از هر نمونه آب در ظروف شیشه ای استریل و ۱۰۰گرم نمونه سبزیجات در پلاستیک های پلی اتیلن استریل). نمونه ها بلافاصله به آزمایشگاه مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی قم، انتقال یافتند.

۲-۲- جداسازی و شناسایی *ویبریو کلرا*

در مرحله بعد ۵۰۰ میلی لیتر از آب سبزیجات شسته شده و آب های سطحی جمع آوری شده توسط کاغذ غشایی با منفذ ۰/۴۵ میکرومتر(Advantec Toyo, Ltd., Tokyo) فیلتر شدند. سپس صافی های غشایی با رعایت شرایط سترون در محیط آب پپتونه نمک دار قلیایی با pH =۶/۸±۰/۲ قرار گرفته ودر دمای ۳۷ °C به مدت ۸-۶ ساعت گرمخانه گذاری شدند. سپس این محلول به مدت ۵ دقیقه، ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. حدود ۰/۵ میلی لیتر از سوسپانسیون روی پلیت های حاوی محیط TCBS[12] کشت داده شد. بعد از ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ °C انکوباسیون، تک کلنی های زرد رنگ که شباهت مورفولوژیک (۴-۲ میلی متر قطر، با مرکز تیره و لبه های شفاف) با کلنی های *ویبریو کلرا* داشتند بر روی محیط BHI [13] کشت داده شدند.

از کشت باکتری بر روی این محیط برای انجام تست های بیوشیمیایی تشخیصی و سروتایپینگ سویه ها استفاده شد. برای تشخیص اولیه باکتری های مشکوک، مجموعه ای از آزمایش های بیوشیمیایی مانند کاتالاز، اکسیداز، TSI[14] آگار، KIA[15] آگار، وئزپرسکوئر (VP)، بایل اسکولین آگار، لیزین دکربوکسیلاز، آرژنین دی هیدرولاز، اورنیتین دکربوکسیلاز، سیترات و توانایی رشد در غلظت های مختلف کلرید سدیم انجام شد (همه محیط ها از ایبرسکو، ایران، خریداری شدند).

۲-۳- شناسایی جدایه ها با آنتی سرم اختصاصی

همه کلنی هایی که نتایج آزمون های بیوشیمیایی آنها با *ویبریو کلرا* مطابقت داشتند برای گروه بندی سرولوژیکی با استفاده از آنتی سرم پلی والانت O1 (بهار افشان، ایران)، به روش پلیت آگلوتیناسیون مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا روی یک اسلاید یک قطره یک قطره آنتی سرم اختصاصی ریخته سپس با استفاده از آنس حلقوی سترون یک پرگنه از کشت تازه جدایه ها برداشته و در آنتی سرم پراکنده شد. مشاهده آگلوتیناسیون دلیل بر مثبت بودن واکنش و شناسایی باکتری مورد نظر بود [۲۰-۱۹].

[12] Thiosulfate–citrate–bile salts–sucrose agar
[13] Brain Heart Infusion
[14] Triple Sugar Iron
[15] Kliger's Iron

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]
[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]

٤-۲- استخراج DNA و واکنش های زنجیره ای پلیمراز ([16]PCR)

DNA ژنومی سویه های *ویبریو کلرا* با استفاده از روش جوشاندن استخراج شدند و سپس تا زمان انجام آزمون PCR ، در فریزر ۲۰ °C نگه داری شدند [۲۱]. به منظور تایید *ویبریو کلرا* بودن جدایه ها، حضور ژن *ompW* و برای بررسی حضور ژن های حدّت *ctxA*، *hlyA*، *toxR*، *ace*، *chxA* ، *rtxA* و *tcpA* درآنها، آزمون PCR با استفاده از جفت پرایمر های هر ژن انجام شد (جدول ۱). حجم نهایی هر واکنش ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس ۱X (Amplicon,Denmark)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰پیکومول در هر میکرولیتر)، ۳ میکرولیتر DNA ژنومی و ۱۰ میکرولیتر آب مقطر بود. برنامه تکثیر استفاده شده در دستگاه ترموسایکلر(Eppendorf, Hamburg, Germany) ۹۵ °C برای ۵ دقیقه دناتوراسیون اولیه، ۲۵ سیکل شامل: ۹۵°C برای۳۰ ثانیه دناتوراسیون، دما/زمان اتصال برطبق جدول ۱، مرحله طویل شدن ۷۲ °C برای ۱ دقیقه، مرحله طویل شدن نهایی ۷۲°C برای ۱۰دقیقه بود. سپس محصولات PCR از نظر تکثیر یا عدم تکثیر ژن مورد نظر با الکتروفورز ژل آگارز بررسی شدند. الکتروفورز محصولات PCRروی ژل آگارز ۱ درصد (وزنی/ حجمی) در دستگاه الکتروفورز با ولتاژ ۱۰۰ولت و به مدت یک ساعت انجام شد. با دستگاه ژل داکیومینت (Thermo Fisher,USA) با تابش اشعه ماورا بنفش (UV)، باندهای DNA مشاهده و ثبت گردیدند. در مرحله آخر اندازه محصول PCR با مقایسه موقعیت باند DNA تکثیر شده با اندازه باندهای مارکر تخمین زده شد.

Table 1. Specific primer sequence used in PCR test

Target Gene(s)	Primer sequence(5→ 3')	Product size(bp)	Annealing temperature (°C/s)	References
ompW	F: CACCAAGAAGGTGACTTTATTGTG R: GAACTTATAACCACCCGCG	588	55 /30	[22]
ctxA	F: CTCAGACGGGATTTGTTAGGCACG R: TCTATCTCTGTAGCCCCTATTACG	301	58 /60	[23]
toxR	F: CCTTCGATCCCCTAAGCAATAC R: AGGGTTAGCAACGATGCGTAAG	779	60/ 60	[7]
rtxA	F:CTGAATATGAGTGGGTGACTTACG R: GTGTATTGTTCGATATCCGCTACG	418	56 /30	[24]
tcpA	F: CACGATAAGAAAACCGGTCAAGAG R: TTACCAAATGCAACGCCGAATG	620 420	60 /60	[25]
hlyA	F: AGATCAACTACGATCAAGCC R: AGAGGTTGCTATGCTTTCTAC	1677	40/55	[8]
chxA	F: GAAAGAGGGTTCACGCCATAA R: CGGGATGGTGAGTGACATAATC	554	58 /30	In study
ace	F: TAAGGATGTGCTTATGATGGACACCC R: CGTGATGAATAAAGATACTCATAGG	316	54 /30	[13]

۵-۲- حساسیت ضدمیکروبی جدایه ها

حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه های *ویبریو کلرا* با روش انتشار دیسک مطابق دستورالعمل های موسسه استاندارد آزمایشگاهی ([17]CLSI)، (CLSI, 2018b) تعیین شد [۱۰, ۲٦]. ابتدا از کشت ۲٤ ساعته جدایه ها در سالین سترون ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. سپس سوسپانسیون باکتریایی با استفاده

[16] Polymerase chain reaction

[17] Clinical and Laboratory Standards Institute

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]

از یک سوآب سترون بر روی پلیت های آگار مولرهینتون به صورت خطی و یکنواخت کشت داده شد. سپس دیسک های آنتی بیوتیک (شرکت پادتن طب، ایران) پیشنهادی برای بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی *ویبریو کلرا* بر روی محیط مولرهینتون آگار تلقیح شده، قرار داده شدند. این دیسک ها شامل: آمپی سیلین(۱۰ میکروگرم)، آموکسی سیلین- کلاوولانیک اسید (۲۰/۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین(۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل(۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین(۵ میکروگرم)، سفوتاکسیم(۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم(۳۰ میکروگرم)، سفپیم(۳۰ میکروگرم)، سفوروکسیم(۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم(۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین(۱۰ میکروگرم)، تری متوپریم- سولفامتوکسازول(۱۰ میکروگرم)، ایمی پنم(۱۰ میکروگرم)، مروپنم(۱۰ میکروگرم)، پیپراسیلین(۱۰۰ میکروگرم)، لووفلوکساسین(۵ میکروگرم)، آفلاکساسین(۵ میکروگرم) و تتراسایکلین(۳۰ میکروگرم) بودند. پلیت ها در دمای ۳۷°C به مدت ٤٨ ساعت گرمخانه- گذاری شدند. سپس قطر منطقه مهاری رشد هر یک از آنتی بیوتیک ها اندازه گیری و با مطابقت با استاندارد CLSI به ۳ دسته حساس، نیمه حساس و مقاوم به هر آنتی بیوتیک دسته بندی شدند. آنتی بیوگرام جدایه ها در سه تکرار انجام شد.

۳- نتایج

براساس نتایج مجموعا ۱۷ (۱٤/۱٦٪) جدایه *ویبریو کلرا* شناسایی شد که شامل ۷ مورد (۱٤/۰۰٪) سبزیجات (٤ مورد مناطق روستایی (۵۷/۱۵٪) و ۳ مورد شهری (٤۲/۵۸٪) و ۱۰ مورد (۱٤/۲۸٪) آب های کشاورزی (۸ مورد روستایی (۸۰/۰۰٪) و ۲ مورد شهری (۲۰/۰۰٪)) بودند. سروتایپینگ سویه ها با استفاده از آنتی سرم پلی والان O1 نشان داد که تمام جدایه ها متعلق به سروتایپ non-O1 بودند.

بر اساس نتایج، ۱۰۰٪ جدایه ها با داشتن ژن *ompW* از نظر *ویبریو کلرا* بودن تایید نهایی شدند. از ۱۷ جدایه، ۸۸/۲۳٪ دارای ژن *toxR*، ۵۸/۸۲٪ دارای ژن *rtxA*، ٤۷/۰۵٪ دارای ژن *hlyA*، ۵/۸۸٪ دارای ژن *chxA* و ۱۰۰٪ آن ها فاقد ژن های *ctxA, ace* و *tcpA* بودند. همچنین در۵ جدایه (۲۹/٤۱٪) هر سه ژن *rtxA*، *toxR* و *hlyA* و در ٦ جدایه (۳۵/۲۹٪) هر دو ژن *rtxA* و *toxR* به صورت همزمان دیده شد (تصویر ۱ و ۲).

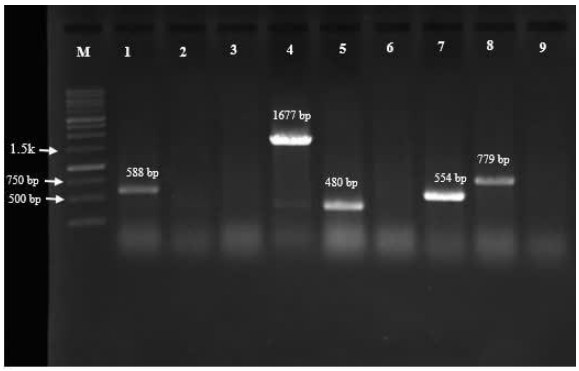

Fig. 1. Electrophoresis of PCR products of virulence genes in some environmental strains of *V. cholerae* non-O1: lane M: 1 kb DNA ladder, lane 1: positive sample for *ompW* gene (588 bp band), lanes 2, 3, 6: negative sample for *tcpA*, *ace*, and *ctxA* genes, lane 4: positive sample for *hlyA* gene (1677 bp band), lane 5: positive sample for *rtxA* gene (480 bp band), lane 7: positive sample for *chxA* gene (554 bp band), lane 8: positive sample for *toxR* gene (779 bp band), lane 9: negative control

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]

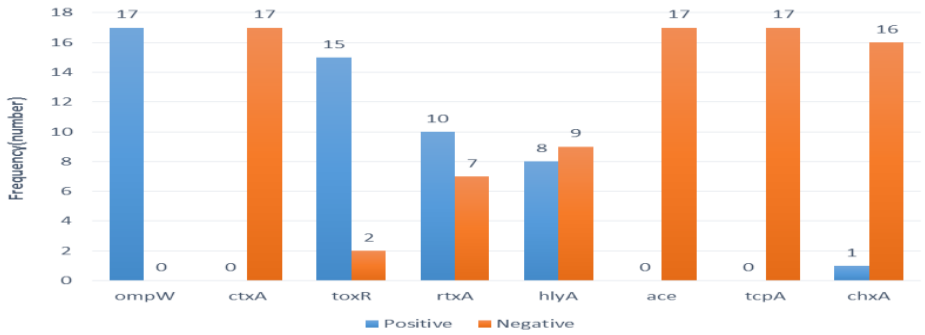

Fig 2. Frequency of *V. cholerae* non-O1 virulence genes isolated from water and vegetable samples

نتایج حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که ۱۰۰٪ جدایه های *ویبریو کلرا* non-O1 نسبت به آنتی بیوتیک های آمیکاسین، کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، سفپیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین، لووفلوکساسین، آفلاکساسین و تتراسایکلین حساس می-باشند. بیشترین حساسیت بینابینی در ٤۷/۰۵٪ جدایه ها به آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین و مروپنم و بیشترین مقاومت با ۳٤/۲۹٪ به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و آموکسی سیلین دیده شد. ۱۷/٤٦٪ جدایه ها به سفوروکسیم، ۱۱/۷٦٪ آنها به ایمی پنم، ۵/۸۸٪ جدایه ها به آنتی بیوتیک های سفوکسیتین و تری متوپریم-سولفومتوکسازول مقاوم بودند (جدول ۲). یک جدایه (۵/۸۸٪) مقاومت چند گانه به ٤ آنتی بیوتیک آمپی سیلین، آموکسی سیلین، ایمی پنم و سفوکسیتین نشان داد.

Table 2. Antibiotic susceptibility of 17 *V. cholerae* non-O1 isolates from water and vegetable samples

Antibiotic	*Vibrio cholerae* N (%)		
	S	**I**	**R**
Ampicillin (AM)	7 (41.17)	4 (23.52)	6 (35.29)
Amoxicillin-clavulanic acid (AMC)	3 (17.64)	8 (47.05)	6 (35.29)
Amikacin (AN)	17 (100)	0 (00)	0 (00)
Chloramphenicol (C)	17 (100)	0 (00)	0 (00)
Ciprofloxacin (CP)	17 (100)	0 (00)	0 (00)
Cephothaxim (CTX)	17 (100)	0 (00)	0 (00)
Ceftazidime (CAZ)	13 (76.47)	4 (23.52)	0 (00)
Cefoxitin (FOX)	15 (88.23)	1 (5.88)	1 (5.88)
Cefepim (PEP)	17 (100)	0 (00)	0 (00)
Gentamycin (G)	17 (100)	0 (00)	0 (00)
Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)	16 (94.11)	0 (00)	1 (5.88)
Imipenem (IPM)	14 (82.35)	1 (5.88)	2 (11.76)
Piperacillin (PIP)	12 (70.58)	5 (29.41)	0 (00)
Levofloxacin (LEV)	17 (100)	0 (00)	0 (00)
Meropenem (MEN)	9 (52.94)	8 (47.05)	0 (00)
Ofloxacin (OFX)	17 (100)	0 (00)	0 (00)
Tetracycline (TE)	17 (100)	0 (00)	0 (00%)
Cefuroxime (X)	10 (58.82)	4 (23.52)	3 (17.64)

S: Susceptible, I: inter susceptible, R: resistant

٤- بحث ونتیجه گیری

اسهال ناشی از میکروارگانیسم ها شایع ترین بیماری در بین بیماران و به ویژه درمیان کودکان است. این بیماری دومین عامل مرگ و میر است و حدود ۱۰ درصد از مرگ و میرها را در سراسر جهان به خود اختصاص می دهد. در میان عوامل عفونی، باکتری ها و ویروس ها مسئول بخش قابل توجهی از موارد اسهال حاد هستند و گزارش های مختلفی در مورد شیوع بیماری های اسهالی در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته منتشر شده است [۱۹, ۲۷-۳۰]. لذا در این مطالعه شیوع *ویبریو کلرا* در آب های کشاورزی و سبزیجات استان قم و وجود ژن های حدّت و بررسی الگوی مقاومت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]

آنتی بیوتیک برای اولین بار بررسی شد. برای تشخیص عفونت های باکتریایی از روش های مختلفی استفاده می شود [۳۱-۳۳]. در این گزارش علاوه بر بررسی بیوشیمیایی، تایید سویه های جدا شده با روش PCR نیز انجام شد.

اسهال ناشی از گونه های *ویبریو*، به عنوان یک بیماری مهم در دهه های اخیر در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه افزایش یافته است [۸, ۳٤, ۳۵]. *ویبریو کلرا* به عنوان یک پاتوژن مدفوعی-دهانی شناخته شده است و آب های سطحی و مواد غذایی خام به عنوان مهمترین زیستگاه و منبع انتقال این باکتری به انسان هستند [۳٦]. با توجه به اینکه در ایران معمولا از آب فاضلاب برای آبیاری سبزیجات استفاده می شود، مصرف کنندگان به طور بالقوه در معرض عفونت های ناشی از این باکتری قرار دارند. کیفیت و کمیت آب آشامیدنی، آب کشاورزی و آب های محیطی و یا تفریحی می تواند با تغییرات آب و هوا مرتبط باشد. شواهد نشان می دهد میزان عفونت در مناطقی که به طور طبیعی گرم و زمین-ها شور هستند به میزان قابل‌توجهی بیشتر است و عمدتا شناسایی و وجود این باکتری در ماه های گرم تر و مناطق با بهداشت ضعیف بیشتر گزارش شده است [۳۷, ۳۸]. استان قم هم به دلیل آب و هوای گرم و وجود آب های نمکی یکی از مناطق بومی باکتری *ویبریو کلرا* است [۱۹].

ویبریو کلرا O1 درمناطق بومی وبا به دو دلیل به سختی شناسایی می شوند یکی تعداد خیلی بیشتر *ویبریو کلرا*-non O1و دیگری به دلیل فرضیه زنده ولی غیر قابل کشت بودن (VBNC[18]). بنابراین *ویبریو کلرا* non-O1 به آسانی از نمونه های محیطی جدا می شوند [۳۹, ٤۰]. در این مطالعه شیوع این باکتری ۱٤/۱٦٪ بدست آمد و تمام سویه های جدا شده از آب و سبزیجات سروتیپ non-O1 بودند که تایید کننده فرضیه های مطرح شده در بالا هستند.

مطالعات مختلفی در ایران و جهان برای شناسایی *ویبریو کلرا* در آب های مختلف صورت گرفته است. در مطالعه ممتاز و همکاران (۲۰۱۳)، در آب های معدنی و لوله کشی استان اصفهان به ترتیب ۰/٦٦ ، ٤/۵۸ و ۰/۸۹ ٪ ، *ویبریو کلرا*، *اشرشیا کلی* و *سالمونلا* شناسایی شدند [٤۱]. در تحقیق Fraga در سال ۲۰۰۷، میزان شیوع *ویبریو کلرا* non-O1, non-O139 در آب و پلانکتون های جدا شده از آب های شیرین و لب شور۳٦/۱۰٪ بود [٤۲]. این میزان در قیاس شیوع ۱٤/۲۸٪ بدست آمده در مطالعه حاضر کمتر بود. تحقیقات کمی در جهان و در ایران بر روی شیوع *ویبریو کلرا* non-O1 در سبزیجات وجود دارد. عظیمی راد و همکاران (۲۰۲۱)، انواع مختلف سبزیجات خام و تازه جمع آوری شده از زمین های کشاورزی، سوپرمارکت ها، هایپر مارکت ها و سبزی فروش های مناطق مختلف تهران برای وجود پاتوژن های غذا زاد از جمله *ویبریو کلرا* بررسی کردند که در هیچ یک از نمونه ها *ویبریو کلرا* یافت نشد [٤۳]. در حالی که در مطالعه حاضر ۷ نمونه سبزیجات (۱٤/۰۰٪) به این باکتری آلوده بودند. در مطالعه ای (۲۰۲۲)، در اندونزی به بررسی وجود باکتری *ویبریو کلرا* در میوه و سبزیجات عرضه شده در فروشگاه ها پرداختند که در میان سبزیجات مورد بررسی شیوع *ویبریو کلرا* O1, non O1 به ترتیب ۱۱/۸٤ و ۰/۰۰ ٪ بدست آمد [٤٤]. Hounmanou و همکاران (۲۰۱٦) در تانزانیا شیوع *ویبریو کلرا* O1 در ماهی، فاضلاب و سبزیجات آبیاری شده با فاضلاب را به ترتیب ۳٦/۷۰ ، ۲۱/۷۰ و ۲۳/۳۰٪ گزارش کردند [٤۵].

درچندین مطالعه در ایران علل ابتلا افراد به وبا و ارتباط آن با مصرف آب وسبزیجات بررسی شده است. در مطالعه خزائی و همکاران مشخص شد به ترتیب ۸۹/۱۰ و ۱٤/۹۰٪ بیماران از آب های سطحی و زیر زمینی استفاده کرده بودند [٤٦]. در طی طغیان وبا در شهرستان البرز (۲۰۱٦)، مشخص شد ۷٦/٦۰٪ بیماران در سه روز قبل از بیماری سبزیجات مصرف کرده بودند [٤۷]. بنابراین می توان بیان کرد که به احتمال زیاد آب ها و سبزیجات به عنوان منبع اولیه آلودگی این باکتری بودند که سبب ابتلا افراد به بیماری وبا شده است. به طور کلی، سویه های محیطی *ویبریو کلرا*-non-O1, non-O139 برای ایجاد هر گونه شیوع و اپیدمی شبه وبا ناتوان هستند، اما شواهدی از وجود ژن های حدّت در این سویه

[18] Viable But Non-Culturable

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]

های محیطی وجود دارد که توجه به آنها را افزایش داده است. ظهور سویه های بیماری زای non-O1 و تبدیل آنها به O1 ممکن است خطرات عمده ای برای سلامت عمومی به همراه داشته باشد [٤٨]. مطالعات زیادی روی شناسایی انواع ژن های حدّت در باکتری *ویبریو کلرا* non-O1 صورت گرفته است [٤٩-٥١]. در مطالعه حاضر، شیوع ژن های توکسین ضروری *toxR*، ۸۸/۲۳٪ و ژن کمکی *hlyA*، ٤۷/۰٥٪ در جدایه های *ویبریو کلرای* Non O1 بود. Ceccarelli و همکارانش (۲۰۱٥)، از ۳۸۹ سویه non O1,non O139 جدا شده از رسوبات و آب های Chesapeake Bay مریلند آمریکا، در ۸۹٪ ژن *hlyA*، ۸۰٪ ژن *toxR* ، ۱٪ ژن *ace*، ۱٪ ژن *ctxA* و ۰٪ ژن *tcpA* شناسایی کردند [۱۷]. Mavhungu و همکاران (۲۰۲۳)، در مطالعه ای در آفریقای جنوبی، در۲۷٪ از پساب های فاضلاب، باکتری *ویبریو کلرا* شناسایی کردند که به ترتیب ۷۸، ٤٤ و٤٤٪ این سویه ها واجد ژن های *toxR*، *hlyA* و *tcpA* بودند [٥۲]. نتایج این مطالعه به لحاظ ژن های *toxR*، *hlyA* شباهت زیادی به نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر دارد. در مطالعه ای در چین میزان *ویبریو کلرا* non-O1 جدا شده از دو رودخانه آب شیرین Zhejiang، ۳۹/۱۰ و ٤۷/۳۰٪ بدست آمد و به ترتیب ۹۹ و ۹۸٪ سویه های جداشده دارای ژن های *toxR* و*hlyA* بودند و بقیه ژن های حدّت در تعداد کمی از سویه ها وجود داشت [٥۳]. Schwartz (۲۰۱۹)، در مطالعه ای از دو دریای بالتیک و دریای شمال آلمان، ۱۰۰ سویه *ویبریو کلرا*-non-O1, non O139 جدا کردند، تمام سویه ها دارای ژن *toxR* و ۹۷٪ دارای ژن *hlyA* بودند [٥۰]. در مقایسه چندین مطالعه ذکر شده در بالا و نتایج مطالعه حاضر به نظر میرسد درصد بالایی از سویه های *ویبریو کلرا* non-O1 موجود در آب های آزاد و دریا ها دارای ژن های *toxR*، *rtxA* و*hlyA* هستند که پی بردن به علت این مساله نیاز به تحقیق بیشتر دارد.

٤- منابع

[1] Al-Tawfiq, J.A., et al., (2023). The cholera challenge: How should the world respond? *New Microbes and New Infections*, 51.

[2] Pal, B.B., et al., (2023). Spectrum of ctxB genotypes, antibiogram profiles and virulence genes of *Vibrio cholerae* serogroups isolated from environmental water sources from Odisha, India. *BMC microbiology*, 23(1): p. 1-13.

[3] Saberpour, M., et al., (2022). Effects of chitosan nanoparticles loaded with mesenchymal stem cell

مقاومت آنتی بیوتیکی در میان ارگانیسم ها مختلف خصوصا *ویبریو کلرا* یک چالش مهم در حوزه سلامت می باشد [٥٤, ٥٥]. Lue و همکاران در سال ۲۰۲۱مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۱٥ جدایه *ویبریو کلرا* non-O1,non –O139 را به چندین آنتی- بیوتیک بررسی کردند که بیشترین مقاومت جدایه ها به آنتی بیوتیک آمپی سیلین (٤۷/۸۳ ٪)و سفازولین (٦۷/۰۷ ٪) بود [٥۳]. همچنین Chen (۲۰۲۱)، نشان داد بیشتر جدایه ها به آنتی بیوتیک موکسفلوکساسین (۷٤/۹۰٪) و بعد از آن ٥۹/۱۰ ٪ به آمپی سلین مقاومت داشتند [٥٦]. در این تحقیق بیشترین مقاومت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و آموکسی سیلین با ۳٥/۲۹٪ بدست آمد. با مقایسه با نتایج سایر تحقیق ها بنظر میرسد مقاومت به آمپی سلین در میان جدایه های *ویبریو کلرا* بیشتر دیده می شود. به طور کلی به دلیل حضور ژن های حدّت در جدایه‌های *ویبریو کلرا* non-O1 می توان گفت که باکتری های موجود در آب و سبزیجات مخزن مهمی از ژن های حدّت هستند و *ویبریو کلرا* non-O1، به شکل بالقوه بیماری زا هستند. و این یافته ها ارتباط بین مخزن محیطی و عفونت انسانی را تقویت می کند. لذا نظارت مستمر بر سالم بودن آب های کشاورزی و سبزیجات توسط تیم های ارزیاب بهداشت عمومی به منظور پیشگیری و جلوگیری از انتشار بیماری بسیار حائز اهمیت است.

٥- سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه دکتری تخصصی خانم سمیه کرمانی در رشته بهداشت مواد غذایی دانشگاه دولتی شهرکرد می باشد. از حمایت و همکاری اساتید گرامی، مسئولین محترم مرکزتحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قم در انجام مراحل این مطالعه تشکر و قدردانی می شود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]

conditioned media on gene expression in *Vibrio cholerae* and Caco-2 cells. *Scientific Reports*, 12(1): p. 9781. [4] Karaolis, D.K., R. Lan, and P.R. Reeves., (1995).The sixth and seventh cholera pandemics are due to independent clones separately derived from environmental, nontoxigenic, non-O1 *Vibrio cholerae*. *Journal of Bacteriology*, 177(11): p. 3191-3198.

[5] Singh, D., et al., (2001). Molecular analysis of *Vibrio cholerae* O1, O139, non-O1, and non-O139 strains: clonal relationships between clinical and environmental isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(2 :(p. 910-921.

[6] Heydari, H., et al., (2024). Evaluation of the prevalence of *Aeromonas* spp., *Campylobacter* spp., and *Clostridioides difficile* in immunocompromised children with diarrhea. *BMC Infectious Diseases*, 24(1): p. 512. [7] Shams, S., et al., (2020). Detection and characterization of rotavirus G and P types from children with acute gastroenteritis in Qom, central Iran. *Gastroenterology and Hepatology From Bed To Bench*, 13(Suppl1): p. S128.

[8] Barati, M., et al., (2021). Prevalence of intestinal parasitic infections and *Campylobacter* spp. among children with gastrointestinal disorders in Tehran, Iran. *Parasite Epidemiology and Control*, 13: p. e00207.

[9] Yasaie, S., et al., (2024). Prevalence of Human *Adenovirus, Epstein - Barr virus, and Cytomegalovirus* in Pediatric Hematologic Diseases in Iran. *Infection Epidemiology and Microbiology*, 10(1): p. 0-0

[10] Lepuschitz, S., et al., (2019). Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance traits of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 isolated from a large Austrian lake frequently associated with cases of human infection. *Frontiers in microbiology*, 1 :p. 2600

[11] Canals, A., et al., (2023). ToxR activates the *Vibrio cholerae* virulence genes by tethering DNA to the membrane through versatile binding to multiple sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(29): p. e2304378120.

[12] Singh, D ,.S.R. Isac, and R. Colwell.,(2002). Development of a hexaplex PCR assay for rapid detection of virulence and regulatory genes in *Vibrio cholerae* and *Vibrio mimicus*. *Journal of clinical microbiology*, 40(11): p. 4321-4324.

[13] O'shea, Y.A., et al., (2004). Evolutionary genetic analysis of the emergence of epidemic *Vibrio cholerae* isolates on the basis of comparative nucleotide sequence analysis and multilocus virulence gene profiles. J*ournal of clinical microbiology*, 42(10): p. 4657-4671.

[14] Faruque, S.M., et al., (2004). Genetic diversity and virulence potential of environmental *Vibrio cholerae* population in a cholera-endemic area. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(7): p. 2123-2128. [15] Bakhshi, B., et al., (2009). A molecular survey on virulence associated genotypes of non-O1 non-O139 *Vibrio cholerae* in aquatic environment of Tehran, Iran. *Water research*, 43(5): p. 1441-1447.

[16] Huq, A., (1996).Vibrios in the marine and estuarine environment: tracking *Vibrio cholerae. Ecosyst Health*, 2: p. 198-214

[17] Ceccarelli, D., et al., (2015). Non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* carrying multiple virulence factors and *V. cholerae* O1 in the Chesapeake Bay, Maryland. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(6): p. 1909-1918.

[18] Shah, M.M., et al., (2023). Antibiotic-Resistant *Vibrio cholerae* O1 and Its SXT Elements Associated with Two Cholera Epidemics in Kenya in 2007 to 2010 and 2015 to 2016. *Microbiology Spectrum*, p: e04140-22.[19] Mohebi, S., R. Saboorian, and S. Shams., (2022). The first report of *Vibrio fluvialis* isolated from a clinical sample in Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 14(5): p. 677.

[20] Noguerola, I. and A. Blanch., (2008). Identification of *Vibrio* spp. with a set of dichotomous keys. *Journal of applied microbiology* ,105 (1) :p. 175-185

[21] Ausubel, F.M., et al., (1992). Short protocols in molecular biology. *New York*, 275: p. 28764-28773.

[22] Huq, A., et al., (2012). Detection, isolation, and identification of *Vibrio cholerae* from the environment. *Current protocols in microbiology*, 26(1): p. 6A. 5.1-6A. 5.51

[23] Keasler, S. and R. Hall, (1993). Detecting and biotyping *Vibrio cholerae* O1 with multiplex polymerase chain reaction.

[24] Haley, B.J., et al., (2012). *Vibrio cholerae i*n a historically cholera-free country .*Environmental microbiology reports*, 4(4): p. 381-389

[25] Rivera, I.N., et al., (2012). Genotypes associated with virulence in environmental isolates of *Vibrio cholerae. Applied and environmental microbiology*, 67(6): p. 2421-2429.

[26] Lewis, I. and S .James, (2022). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. (No Title). [27] Yasaie, S., et al., (2024). Evaluation of the detection of diarrhoea-associated RNA viruses in immunocompromised children in Iran. *Infection Prevention in Practice*, (3)6: p. 100370.

[28] Moballegh Naseri, M., et al., (2020). *I*n silico analysis of epitope-based CadF vaccine design against *Campylobacter jejuni. BMC research notes*, 13(1): p. 1-6.

[29] Shams, S., B. Bakhshi, and T. Tohidi Moghadam, (2016). In Silico Analysis of the cadF Gene and Development of a Duplex Polymerase Chain Reaction for Species-Specific Identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli.* Jundishapur J Microbiol, 9(2): p. e29645.

[30] Shams, S., et al., (2021). *Tropheryma whipplei* intestinal colonization in immunocompromised children in Iran: a preliminary study. *Future Microbiology*, 16(15): p. 1161-1166.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]

[31] Shams, S., et al., (2019). A sensitive gold-nanorods-based nanobiosensor for specific detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Journal of nanobiotechnology*, 17(1): p. 1-13.
[32] Shams, S., B. Bakhshi, and B. Nikmanesh, (2016). Designing a rapid and accurate method for transportation and culture of the *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*-fastidious bacteria in the children with bacterial gastrointestinal symptoms. *Koomesh*, 18(1).
[33] Bonaiuto, E., et al., (2018). Versatile nano-platform for tailored immuno-magnetic carriers. A*nal Bioanal Chem*, 410(29): p. 7575-7589.
[34] Shams, S., et al., (2022). Prevalence of enteric adenovirus and co-infection with *rotavirus* in children under 15 years of age with gastroenteritis in Qom, Iran. *Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench*, 15(3): p. 256.
[35] Kaakoush, N.O., et al., (2015). Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clinical microbiology reviews*, 28(3): p. 687-720.
[36] Ferdous, J., et al., (2018). A comparative analysis of *Vibrio cholerae* contamination in point-of-drinking and source water in a low-income urban community, Bangladesh. *Frontiers in Microbiology*, 9: p. 489.
[37] Lipp, E.K., A. Huq, and R.R., (2002). Colwell, Effects of global climate on infectious disease: the cholera model .*Clinical microbiology reviews*, 15(4): p. 757-770.
[38] Farhadkhani, M., et al., (2020). *Campylobacter* risk for the consumers of wastewater-irrigated vegetables based on field experiments. *Chemosphere*, 251: p. 126408.
[39] Grim, C.J., et al., (2010). Detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 in freshwater lakes of the former Soviet Republic of Georgia. *Environmental Microbiology Reports*, 2(1): p. 2-6.
[40] Martins, M.T., et al., (1991). Occurence of *V. cholerae* Non-Toxigenic in Wastewaters from São Paulo, Brazil. *Water Science and Technology*, 24(2): p. 363.
[41] Momtaz, H., et al., (2013). Detection of *Escherichia coli*, *Salmonella* species, and *Vibrio cholerae* in tap water and bottled drinking water in Isfahan, Iran. *BMC public health*, 13: p. 1-7.
[42] Fraga, S.G., et al., (2007). Environment and virulence factors of *Vibrio cholerae* strains isolated in Argentina. *Journal of applied microbiology*, 103(6): p. 2448-2456.
[43] Azimirad, M., et al., (2021). Microbiological survey and occurrence of bacterial foodborne pathogens in raw and ready-to-eat green leafy vegetables marketed in Tehran, Iran. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 237: p. 113824.
[44] Budiman, A., K. Kurnia, and D.E. Waturangi., (2022). Prevalence and molecular characterization of *Vibrio cholerae* from fruits and salad vegetables sold in Jakarta, Indonesia, using most probable number and PCR. *BMC Research Notes*, 15(1): p. 1-9.
[45] Hounmanou, Y.M.G., et al., (2019). Surveillance and genomics of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 from fish, phytoplankton and water in Lake Victoria, Tanzania. *Frontiers in Microbiology*, 10: p. 901.
[46] Khazaei, H.-A., et al., (2005). A six-year study on *Vibrio cholerae* in southeastern Iran. *Jpn J Infect Dis*, 58(1): p. 8-10.
[47] Moradi, G., et al., (2016). A cholera outbreak in Alborz Province, Iran: a matched case-control study. *Epidemiology and health*, 38.
[48] Daboul, J., et al., (2020). Characterization of *Vibrio cholerae* isolates from freshwater sources in northwest Ohio. *PLoS One*, 15(9): p. e0238438.
[49] Ottaviani, D., et al., (2018). Molecular characterization and drug susceptibility of non-O1/O139 *V. cholerae* strains of seafood , environmental and clinical origin, Italy. *Food microbiology*, 72: p. 82-88.
[50] Schwartz, K., et al., (2019). Environmental and clinical strains of non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* from Germany possess similar virulence gene profiles. *Frontiers in microbiology*, 10: p. 733.
[51] Sharma, A. and A.N. Chaturvedi., (2006). Prevalence of virulence genes (*ctxA*, *stn*, *OmpW* and *tcpA*) among non-O1*Vibrio cholerae* isolated from fresh water environment. *International journal of hygiene and environmental health*, 209(6) :p. 521-526.
[52] Mavhungu, M., T.O. Digban, and U.U. Nwodo., (2023). Incidence and Virulence Factor Profiling of *Vibrio* Species: A Study on Hospital and Community Wastewater Effluents. *Microorganisms*, 11(10): p. 2449.
[53] Luo, Y., et al., (2021). Population structure and multidrug resistance of non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* in freshwater rivers in Zhejiang, China. *Microbial ecology*, 1: p. 1-15.
[54] Ghorbanalizadgan, M., et al., (2019). Pulsed-field gel electrophoresis fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated from clinical specimens, *Iran. International microbiology: the official journal of the Spanish Society for Microbiology*, 22(3): p. 391.
[55] Shams, S., et al., (2018). Imipenem resistance in clinical *Escherichia coli* from Qom, Iran. *BMC Res Notes*, 1 (1) :p. 314.
[56] Chen, D., et al., (2021). First experimental evidence for the presence of potentially toxic *Vibrio cholerae* in snails, and virulence, cross-resistance and genetic diversity of the bacterium in 36 species of aquatic food animals. *Antibiotics*, 10 (4): p. 412.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of the prevalence of *Vibrio cholerae* isolated from water and vegetables and the presence of virulence genes and antibiotic resistance pattern in Qom province

Somayeh Kermani[1], Mojtaba Bonyadian[*2], Saeed Shams[*3], Hamdollah Moshtaghi[4]

1-Ph.D. Candidate in Health and Food Quality Control, Faculty of Veterinary, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

2*-Professor, Department of Health and Food Quality Control, Faculty of Veterinary, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. (Corresponding Author 1).

3*-Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran., (Corresponding Author 2).

4-Professor, Department of Health and Food Quality Control, Faculty of Veterinary, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:
Received:2024/3/25
Accepted:2024/6/12

Keywords:

Vibrio cholerae non-O1,
virulence genes,
antibiotic resistance,
water,
vegetables

DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128.

*Corresponding Author E-
boniadian@sku.ac.ir
sshams@muq.ac.ir

ABSTRACT

Vibrio cholerae is one of the important human pathogens that is transmitted through contaminated water and food. In Qom province, due to special weather conditions, diseases caused by V. cholerae are endemic. The aim of this study was the prevalence of V. cholerae in water and vegetables of Qom province and the presence of virulence genes. During two years (2020-2021), 120 samples of agricultural water (70) and vegetables (50) in Qom province were collected. The samples were cultured on specific media. Suspicious colonies were evaluated by Gram staining and biochemical tests and the serotype V. cholerae was identified by serology test. Finally, Then, the presence of virulence genes was investigated by PCR method and also the antibiotic resistance pattern by disk diffusion method was evaluated in the isolates. V. cholerae bacteria were isolated from 17 samples (16.14%), all of which were non-O1. The rate of contamination of water and vegetables was 28.14% (10 cases) and 14.00% (7 cases), respectively. In molecular evaluation, the abundance of virulence genes including: toxR (88.32%), rtxA (58.82%), hlyA (47.05%), chxA (5.88%), and 100% of isolates did not have ctxA, ace and tcpA genes. The most antibiotic resistance is related to ampicillin and amoxicillin (34.29%), followed by cefuroxime (17.46%), imipenem (11.76%), and cefoxitin and trimethoprim-sulfamethoxazole (5.88%). The results of this study showed that V. cholerae non-O1 is present in water and vegetables of Qom province, and as an important source of disease for humans therefore, continuous health monitoring of water and vegetables and proper disinfection of these foods is very important.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.128]