

“Research article: 1411”

## Study of total microbial count, coliform contamination, and the antibiotic resistance pattern of *Escherichia coli* strains in shrimp supplied in Kerman City

Fatehi, F.<sup>1</sup>, Bagheri, M.<sup>2</sup>, Sattari, A.<sup>3\*</sup>

1. Graduate of veterinary medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
2. Department of Food Science and Technology, Bardsir Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
3. Department of Food Hygiene and Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

\*Corresponding Author: amirsatari@uk.ac.ir  
(Received: 2023/8/1 Accepted: 2023/10/23)

### Abstract

Shrimp, a valuable marine protein source, was assessed for microbial quality in Kerman stores over a 3-month period during fall 2021. Aerobic mesophilic bacteria, coliforms, fecal coliforms, and *Escherichia coli* were quantified in 21 raw shrimp samples. Additionally, antibiotic resistance profiles of 125 *Escherichia coli* isolates against nine antibiotics (cefotaxime, ciprofloxacin, nitrofurantoin, gentamicin, cefixime, amikacin, sulfamethoprim, ceftriaxone, and nalidixic acid) were evaluated via disk diffusion assay. Results indicated microbial counts ranging from  $3.3 \times 10^5$  to  $8 \times 10^8$  CFU/ml (5.52 to 8.9 log CFU/ml). Coliform counts varied from zero per gram in 19% of samples to 4383.97 per gram. Fecal coliforms ranged from 0.1898 to 0.32 per gram, absent in 42.86% of samples. *E. coli* was isolated from 57.14% of samples, exhibiting the highest resistance to nalidixic acid (16.8%) and the highest sensitivity to nitrofurantoin and amikacin (99.2%). While antibiotic resistance levels were not alarming, the presence of fecal coliforms and *E. coli* suggests inadequate hygiene, necessitating closer monitoring and adherence to proper protocols for catching, transportation, storage, and preparation of shrimp.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Shrimp, Total count, Fecal coliform, *Escherichia coli*, Antibiotic resistance.

«مقاله پژوهشی: ۱۴۱۱»

## تعیین بار میکروبی کلی، آلودگی کلی فرمی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های اشریشیاکلی در میگوی عرضه شده در شهر کرمان

کیفیت میکروبی میگو در شهر کرمان

فائزه فاتحی<sup>۱</sup>، محبوبه باقری<sup>۲</sup>، امیرستاری<sup>۳\*</sup>

۱- دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۳- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی و بهداشت عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

\*نویسنده مسوول مکاتبات: amirsatari@uk.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۵/۱۰ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۸/۱)

### چکیده

میگو یک منبع پروتئین دریایی پرطرفدار است که ارزش غذایی و اقتصادی بالایی دارد. در این مطالعه، شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی (روش شمارش پلیت هوازی)، کلی فرم، کلی فرم مدفوعی و اشریشیاکلی (روش محتمل ترین تعداد) به منظور ارزیابی کیفیت میکروبی میگوی عرضه شده در سطح فروشگاه‌های شهر کرمان در ۲۱ نمونه‌ی میگو خام در بازه زمانی ۳ ماهه در پاییز سال ۱۴۰۰ انجام پذیرفت. در ادامه مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۲۵ جدایه‌ی اشریشیاکلی در برابر ۹ آنتی بیوتیک سفوتاکسیم، سیپروفلوکساسین، نیتروفوران‌توئین، جتتامایسین، سفکسیم، آمیکاسین، سولفامتوپریم، سفتریاکسون و نالیدیکسیک اسید به روش انتشار دیسک مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین میزان بار میکروبی  $8 \times 10^8$  CFU/ml و کمترین میزان آن  $3/3 \times 10^5$  CFU/ml بود. شمارش کلی فرم در نمونه‌ها از صفر کلی فرم در گرم در چهار نمونه (۱۹ درصد) تا  $4383/97$  کلی فرم در گرم متغیر بود. همچنین شمارش کلی فرم‌های مدفوعی در این مطالعه در دامنه‌ی  $0-1898/32$  کلی فرم مدفوعی در گرم بود و در ۹ نمونه (۴۲/۸۶ درصد) کلی فرم مدفوعی مشاهده نشد. باکتری اشریشیاکلی از  $57/14$  درصد از نمونه‌ها جدا شد. بیشترین مقاومت در برابر آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید (۱۶/۸ درصد) و بیشترین حساسیت در برابر آنتی بیوتیک نیتروفوران‌توئین و آمیکاسین (۹۹/۲ درصد) مشاهده شد. وضعیت مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه‌ها نگران کننده نبود اما آلودگی به کلی فرم مدفوعی و اشریشیاکلی حاکی از شرایط نامناسب بهداشتی است و بایستی با نظارت بیشتر و همچنین تهیه و آموزش پروتکل‌های صحیح صید، حمل، نگهداری و آماده‌سازی میگو، وضعیت بهداشتی و کیفیت میگو‌های عرضه شده را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: میگو، شمارش کلی، کلی فرم مدفوعی، اشریشیاکلی، مقاومت آنتی بیوتیکی

## مقدمه

میگو یک منبع پروتئین دریایی پرطرفدار در سراسر جهان است که ارزش غذایی و اقتصادی بالایی دارد (Qing *et al.*, 2005). صنعت میگو به عنوان یک صنعت جدید در اقتصاد کشور مطرح می‌باشد و در طی سه دهه گذشته تولید میگوی پرورشی به حدود ۴۵ هزار تن در سال رسیده است. این موضوع در حالی است که میزان صید دریایی میگو در طی سال‌های گذشته همیشه بین ۴ تا ۸ هزار تن ثابت بوده است (Abdulhai *et al.*, 2019).

بیماری‌های منتقله از غذا طیف وسیعی از بیماری‌هایی هستند که پس از خوردن غذاهای آلوده بروز پیدا می‌کنند و سالیانه منجر به خسارات اقتصادی چشمگیر و موارد بستری و مرگ و میر فراوان می‌شوند. غذاهای دریایی به خصوص میگو نقش مهمی در بیماری‌های غذازا دارند (Abdolhai *et al.*, 2019). کلی فرم‌ها در علم ایمنی مواد غذایی به عنوان شاخصی از وضعیت بهداشتی فراوری ماده غذایی مطرح هستند. *اشریشیاکلی* به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی در آب و مواد غذایی مطرح می‌باشد و همچنین به عنوان گونه شاخص در مطالعات مربوط به بررسی وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میکروفلور حیوانات مزرعه و انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد (de Miranda *et al.*, 2022). در سال‌های اخیر موضوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی به یک نگرانی جهانی و چالش مهم در مبحث سلامت عمومی تبدیل شده است و به طور گسترده‌ای در میان حیوانات، آبزیان و انسان در حال گسترش می‌باشد. این روند موجب ناکامی در درمان عفونت‌ها شده است (Xie *et al.*, 2018). آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان عفونت‌ها در

انسان‌ها، حیوانات و آبزیان مصرف می‌شوند و همچنین در مزارع پرورشی به عنوان مکمل‌های غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. میکروارگانیسم‌های مقاوم یا عوامل مقاومت آنتی‌بیوتیکی از طریق فاضلاب وارد رودخانه‌ها شده و با آلوده شدن آب و محیط به آبزیان منتقل می‌شوند (Sanz *et al.*, 2022). از آنجایی که باکتری‌هایی چون *اشریشیاکلی* به زنجیره غذایی انسان راه پیدا می‌کنند نقش بالقوه‌ی آن‌ها به عنوان مخزن ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی غیرقابل انکار است (Rasheed *et al.*, 2014).

باتوجه به دستکاری زیاد میگو در پروسه‌ی صید، حمل و نقل، آماده‌سازی و مخاطرات ناشی از آن، داشتن اطلاعات کافی از وضعیت ایمنی و بهداشتی آن ضروری به نظر می‌رسد. تا به حال مطالعه‌ای در خصوص شاخص‌های کیفی و بهداشتی مربوط به این ماده غذایی مانند تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها و میزان آلودگی این فرآورده به کلی فرم‌ها در شهر کرمان به عنوان مرکز وسیع‌ترین استان کشور صورت پذیرفته است. از طرفی مطالعات محدودی در مورد مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *اشریشیاکلی* از میگو انجام شده است و برای آنکه بتوان استراتژی مناسبی برای تجویز و مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها داشت لازم است که درک درستی از وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جمعیت میکروبی آبزیان داشته باشیم. هدف از این مطالعه ارزیابی تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها، میزان آلودگی به کلی فرم‌ها و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اشریشیاکلی* در نمونه‌های میگوی اخذ شده از شهر کرمان بود.

## مواد و روش‌ها

به منظور تهیه نمونه میگو و آماده‌سازی رقت‌های متوالی تعداد بیست‌ویک نمونه میگوی کامل به صورت تصادفی در فاصله بین مهر تا آذرماه ۱۴۰۰ از فروشگاه‌های ماهی و میگوی سطح شهر کرمان تهیه و با حفظ زنجیره سرما به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان منتقل شد. جهت تهیه رقت‌های متوالی، ۲۵ گرم از هر نمونه میگو (کامل به همراه پوست) به همراه ۲۲۵ میلی‌لیتر پپتون واتر ۰/۱ درصد استریل (Merck, Germany) در داخل کیسه‌های استاندارد ریخته شده و با استفاده از دستگاه بگ میکسر (Bag mixer, Interscience®, England) سوسپانسیون یکنواخت باکتریایی جهت ساخت رقت‌های متوالی لگاریتمی بعدی تهیه شد (ISIRI, 8923/3).

به منظور شمارش کلی میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی به روش کشت سطحی از ۳ رقت متوالی آخر به صورت سه‌گانه (سه پلیت به ازای هر رقت)، بر روی محیط کشت آگار مغذی (Merck, Germany) کشت سطحی داده شد و رقتی که در هر پلیت آن تعداد ۳۰۰-۳۰ کلنی رشد کرده بود برای شمارش انتخاب و به روش استاندارد شمارش شد و تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها بر حسب واحد تشکیل دهنده‌ی پرگنه در هر میلی‌لیتر (CFU/ml) گزارش شد (ISIRI, 5272/2). برای شمارش کلی فرم‌ها و کلی فرم مدفوعی، اشریشیاکلی و تایید اشریشیاکلی از روش محتمل‌ترین تعداد (MPN) به صورت سه لوله‌ای استفاده شد. در مرحله‌ی اول برای هر نمونه سه چینش سه لوله‌ای لاکتوز برات (Quelab, Canada) حاوی لوله

دوره‌ها تهیه شد (هر رقت سه لوله) و از هر رقت یک میلی‌لیتر به هر یک از لوله‌ها تلقیح شد. سپس لوله‌ها در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت زمان ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. لوله‌های دارای کدورت و تجمع گاز در لوله‌ی دوره‌ها به عنوان مثبت گزارش شد.

در مرحله‌ی دوم با استفاده از آنس حلقه‌ای استریل از هر لوله‌ی مثبت در مرحله‌ی قبل (بر اساس مشاهده کدورت و تجمع گاز) به یک لوله محیط بریلینت گرین بایل لاکتوز برات (Biolife, Italy) حاوی لوله دوره‌ها تلقیح انجام شد. سپس لوله‌ها در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. در ادامه جهت تخمین تعداد کلی فرم در هر نمونه از فرمول توماس (Swanson et al., 2001) به شرح ذیل استفاده شد:

$$MPN/g = P/\sqrt{NT}$$

MPN/g = محتمل‌ترین تعداد در هر گرم از ماده غذایی

P = تعداد لوله‌های مثبت

N = مقدار کل نمونه در تمام لوله‌های منفی

T = مقدار کل نمونه در تمام لوله‌ها

و تخمین حدود اطمینان ۹۵ درصد از طریق زیر محاسبه گردید:

$$\log\left(\frac{MPN}{g}\right) \pm (1.96)(0.55)\sqrt{(\log a) \div n}$$

a = نسبت رقیق‌سازی (۱۰ تایی)

n = تعداد لوله‌ها در هر رقت

در مرحله‌ی سوم برای شمارش کلی فرم‌های مدفوعی مانند مرحله دوم عمل شد با این تفاوت که دمای گرمخانه‌گذاری لوله‌ها جهت رشد کلی فرم‌های مدفوعی ۴۴/۵ درجه سلسیوس بود. در ادامه جهت

جدایه‌ها در برات مغذی تلقیح شده و به مدت ۱۸ ساعت در ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. سوسپانسیون سلولی با کدورت معادل ۰/۵ مک فارلند آماده‌سازی شد و از آن با یک سواب استریل به صورت کشت چمنی روی محیط کشت مولر-هیتون (Merck, Germany) کشت داده شد. سپس با یک پنس استریل دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی روی سطح پلیت قرار داده شد و از دیسک کاغذی خالی به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. آزمون برای هر جدایه سه بار تکرار شد. قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک اندازه‌گیری و ثبت شد و براساس معیارهای موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI, M100S) مورد تفسیر قرار گرفت. نتایج به صورت حساس، نیمه‌حساس و مقاوم بر اساس جدول ۱ گزارش شد.

تخمین تعداد کلی‌فرم مدفوعی در هر نمونه از فرمول توماس استفاده شد.

از لوله‌های مثبت مرحله‌ی کلی‌فرم مدفوعی روی پلیت حاوی محیط کشت ائوزین متیلن بلو بصورت خطی کشت داده شد و دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت زمان ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری انجام شد. در صورت رشد کلنی‌های سبزرنگ با جلای فلزی /شریشیاکلی مشکوک تلقی شد. تایید جدایه‌ها از طریق آزمون‌های بیوشیمیایی انجام شد. در این مرحله جدایه‌های انتخاب شده در محیط‌های TSI, SIM, MRVP و سیترات (Merck, Germany) کشت داده شدند. در ادامه جدایه‌ها بر اساس نتایج تست‌های بیوشیمیایی به عنوان باکتری /شریشیاکلی مورد تأیید قرار گرفتند. در صورت تایید کلنی /شریشیاکلی، لوله‌ی مربوطه از نظر /شریشیاکلی مثبت تعیین شد (Chandrapati and Williams, 2014).

در نهایت جهت انجام بررسی مقاومت فنوتیپی آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های /شریشیاکلی هر یک از

جدول ۱- معیارهای موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) برای برخی آنتی‌بیوتیک‌ها بر مبنای قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک (اعداد بر حسب میلی‌متر)

نوع آنتی‌بیوتیک	کد	حساس	نیمه‌حساس	مقاوم
ونکومايسين	V	۱۷≤	۱۵-۱۶	۱۴≥
آمیکاسین	AN	۱۷≤	۱۵-۱۶	۱۴≥
جنتامایسین	GM	۱۵≤	۱۳-۱۴	۱۲≥
سپیروفلوکسازین	CP	۲۱≤	۱۶-۲۰	۱۵≥
تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول	SXT	۱۶≤	۱۱-۱۵	۱۰≥
نیتروفرانتونین	FM	۱۷≤	۱۵-۱۶	۱۴≥
سفتری‌اکسون	CRO	۱۸≤	۱۳-۱۷	۱۲≥
نالیدیکسیک اسید	NA	۱۹≤	۱۴-۱۸	۱۳≥
سفوناکسیم	CTX	۲۶≤	۲۳-۲۵	۲۲≥
سفیکسیم	CFM	۱۹≤	۱۴-۱۸	۱۳≥

## یافته‌ها

## -شمارش کلی میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی

نتایج حاصل از شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها نشان داد که بیشترین میزان بار میکروبی  $8 \times 10^8$  CFU/ml (log CFU/ml ۸/۹) و کمترین میزان  $3/3 \times 10^5$  CFU/ml (log CFU/ml ۵/۵۲) بود

براساس نتایج شمارش کلی فرم‌ها به روش بیشترین تعداد احتمالی، تعداد کلی فرم‌ها در نمونه‌های ما از صفر در چهار نمونه تا  $43/84 \times 10^2$  کلی فرم در گرم متغیر بود. در ۴ نمونه (۱۹ درصد) از نمونه‌ها میزان آلودگی صفر، در ۵ نمونه (۲۳/۸٪) از نمونه‌ها میزان آلودگی

کمتر از ۱۰۰، در ۱۰ نمونه (۴۷/۶ درصد) میزان آلودگی ۱۰۰-۱۰۰۰ و در ۲ نمونه (۹/۶٪) از نمونه‌ها آلودگی بالای ۱۰۰۰ باکتری کلی فرم در هر گرم ماده غذایی بود. نتایج حاصل از شمارش کلی فرم‌های مدفوعی در دامنه  $0-18/98 \times 10^2$  کلی فرم مدفوعی در گرم بود. به طور کلی از ۵۷/۱۴٪ از نمونه‌ها باکتری‌های کلی فرم مدفوعی جدا شد و در تعداد ۹ نمونه (۴۲/۸۶٪) با روش بیشترین تعداد احتمالی کلی فرم مدفوعی شناسایی نشد. نتایج در جدول ۲ به صورت خلاصه آورده شده است.

جدول ۲ - نتایج شمارش میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی، کلی فرم‌ها، کلی فرم مدفوعی و اشریشیا کلی

ردیف	کد نمونه	شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها		شمارش کلی فرم			شمارش کلی فرم مدفوعی			شمارش اشریشیا کلی	
		کلنی/گرم	واحد تشکیل دهنده	حدود اطمینان ۹۵٪	مختل ترین تعداد/گرم	پایینترین	بالا ترین	حدود اطمینان ۹۵٪	مختل ترین تعداد/گرم	پایینترین	بالا ترین
۱	۷/۲۲ (۱)	$4/4 \times 10^6$	۶/۶۴	۳۵/۹	۱۵/۷۱	۸۲/۰۵	۰	۰	۰	-	-
۲	۷/۲۲ (۲)	$6/45 \times 10^7$	۷/۸۱	۴۵۷/۰۶	۱۹۹/۹۷	۱۰۴۴/۶۶	۳۰/۴۹	۱۳/۳۴	۶۹/۶۹	۱۳/۳۴	۶۹/۶۹
۳	۷/۲۹ (۳)	$1/93 \times 10^6$	۶/۲۹	۰	-	-	۰	-	-	-	-
۴	۷/۲۹ (۴)	$8/83 \times 10^7$	۷/۹۵	۹۵/۰۳	۴۱/۵۸	۲۱۷/۲۰	۰	-	-	-	-
۵	۸/۸ (۵)	$1/89 \times 10^7$	۷/۲۸	۳۵/۹۰	۱۵/۷۱	۸۲/۰۵	۳۵/۹۰	۱۵/۷۱	۸۲/۰۵	۱۵/۷۱	۸۲/۰۵
۶	۸/۸ (۶)	$2/41 \times 10^7$	۷/۳۸	۰	-	-	۰	-	-	-	-
۷	۸/۸ (۷)	$1/91 \times 10^7$	۷/۲۸	۰	-	-	۰	-	-	-	-
۸	۸/۱۳ (۸)	$3/3 \times 10^5$	۵/۵۲	۰	-	-	۰	-	-	-	-
۹	۸/۱۳ (۹)	$1/4 \times 10^5$	۵/۶۱	۹۵/۰۳	۴۱/۵۸	۲۱۷/۲۰	۰	-	-	-	-
۱۰	۸/۱۳ (۱۰)	$1/2 \times 10^8$	۸/۰۸	۴۵۷/۰۶	۱۹۹/۹۷	۱۰۴۴/۶۶	۷۳/۳۹	۳۲/۱۱	۱۶۷/۷۴	۱۳/۳۴	۶۹/۶۹
۱۱	۸/۲۷ (۱۱)	$5/7 \times 10^7$	۷/۷۶	۱۵۰/۵۵	۶۵/۸۷	۳۴۴/۱۰	۶۱/۰۸	۲۶/۷۲	۱۳۹/۶۰	۲۶/۷۲	۱۳۹/۶۰
۱۲	۸/۲۷ (۱۲)	$8/13 \times 10^6$	۶/۹۱	۲۲۶/۸۹	۹۹/۲۷	۵۱۸/۵۸	۱۲۲/۵۴	۵۳/۶۱	۲۸۰/۰۸	۵۳/۶۱	۲۸۰/۰۸
۱۳	۹/۲ (۱۳)	$2/56 \times 10^7$	۷/۴۱	۶۱/۹۵	۲۷/۱۰	۱۴۱/۵۹	۶۱/۹۵	۲۷/۱۰	۱۴۱/۵۹	۲۷/۱۰	۱۴۱/۵۹
۱۴	۹/۲ (۱۴)	$2/1 \times 10^7$	۷/۳۲	۱۰۸/۱۷	۴۷/۳۳	۲۴۷/۲۳	۱۰۸/۱۷	۴۷/۳۳	۲۴۷/۲۳	۴۷/۳۳	۲۴۷/۲۳
۱۵	۹/۴ (۱۵)	$8 \times 10^8$	۸/۹	۴۹۲/۱۲	۲۱۵/۳۱	۱۱۲۴/۷۹	۴۹۲/۱۲	۲۱۵/۳۱	۱۱۲۴/۷۹	۲۱۵/۳۱	۱۱۲۴/۷۹
۱۶	۹/۴ (۱۶)	$2/46 \times 10^8$	۸/۳۹	۴۳۸۳/۹۷	۱۹۱۸/۰۸	۱۰۰۲۰	۱۱۵۶/۵۹	۵۰۶/۰۳	۲۶۴۳/۵۰	۵۰۶/۰۳	۲۶۴۳/۵۰
۱۷	۹/۴ (۱۷)	$1/13 \times 10^8$	۸/۰۵	۷۱۷/۵۰	۳۱۳/۹۲	۱۶۳۹/۹۲	۵۴۸/۱۷	۲۵۵/۵۹	۱۳۳۵/۱۸	۲۵۵/۵۹	۱۳۳۵/۱۸
۱۸	۹/۶ (۱۸)	$3/5 \times 10^8$	۸/۵۴	۱۸۹۸/۳۲	۸۳۰/۵۶	۴۳۳۸/۸۰	۱۸۹۸/۳۲	۸۳۰/۵۶	۴۳۳۸/۸۰	۸۳۰/۵۶	۴۳۳۸/۸۰
۱۹	۹/۶ (۱۹)	$2/45 \times 10^8$	۸/۳۹	۳۱۲/۰۸	۱۳۶/۵۴	۷۱۳/۲۹	۳۱۲/۰۸	۱۳۶/۵۴	۷۱۳/۲۹	۱۳۶/۵۴	۷۱۳/۲۹

										(۱۹)		
-	-	۰	-	-	۰	۲۵۲/۱۹	۴۸/۲۸	۱۱۰/۳۴	۶/۳۵	$2/23 \times 10^6$	۹/۱۸	۲۰
											(۲۰)	
-	-	۰	-	-	۰	۴۴۰/۶۲	۸۴/۳۵	۱۹۲/۷۸	۶/۹۲	$8/3 \times 10^6$	۹/۱۸	۲۱
											(۲۱)	

به‌طور کلی از ۵۷/۱۴ درصد از نمونه‌ها باکتری /شریشیاکلی جدا شد. در مجموع تعداد ۱۲۵ سویه /شریشیاکلی از نمونه‌ها جدا و تایید شد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها نسبت به ۹ آنتی‌بیوتیک مورد استفاده بررسی گرفت. نتایج در جدول شماره ۳ قابل مشاهده است.

جدول ۳- تعداد جدایه‌ها و درصد جدایه‌های مقاوم، نیمه حساس و حساس به تفکیک نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، تریمتوپریم سولفامتوکسازول، نیتروفورانتوین، سفتریاکسون، نالیدیکسیک اسید، سفوتاکسیم و سفیکسیم در ۱۲۵ جدایه‌ی /شریشیاکلی

آنتی‌بیوتیک مورد بررسی	تعداد جدایه‌های حساس (درصد)	تعداد جدایه‌های نیمه‌حساس (درصد)	تعداد جدایه‌های مقاوم (درصد)
آمیکاسین	۱۲۴ (۹۹/۲)	۱ (۰/۸)	۰ (۰/۰)
جنتامایسین	۱۱۵ (۹۲)	۶ (۴/۸)	۴ (۳/۲)
سیپروفلوکساسین	۱۱۸ (۹۳/۶)	۱ (۰/۸)	۷ (۵/۶)
تریمتوپریم - سولفامتوکسازول	۱۱۰ (۸۸)	۷ (۵/۶)	۸ (۶/۴)
نیتروفورانتوین	۱۲۴ (۹۹/۲)	۱ (۰/۸)	۰ (۰/۰)
سفتریاکسون	۱۲۳ (۹۸/۴)	۲ (۱/۶)	۰ (۰/۰)
نالیدیکسیک اسید	۷۲ (۶۳/۲)	۲۵ (۲۰)	۲۱ (۱۶/۸)
سفوتاکسیم	۱۰۸ (۸۶/۴)	۱۶ (۱۲/۸)	۱ (۰/۸)
سفیکسیم	۱۱۳ (۹۰/۴)	۸ (۶/۴)	۴ (۳/۲)

## بحث و نتیجه‌گیری

نسبت به میزان آلودگی نمونه‌ها و کیفیت میکروبی آن‌ها به دست می‌دهد.

در این مطالعه بازه زمانی مهر تا آذر ماه (فصل عرضه میگوی تازه در کرمان) برای نمونه‌گیری انتخاب شده و مشاهده شد که موارد با بار میکروبی بالاتر در انتهای این بازه (انتهای آبان ماه و ابتدای آذر ماه) بیشتر دیده شدند. هرچند آنگاه که بررسی‌ها طی سه فصل تابستان، پاییز و زمستان بر روی آلودگی میگوها به عواملی همچون سالمونلا صورت گرفته بالاتر بودن آلودگی در فصل تابستان نسبت به دو فصل بعدی

اگرچه عوامل باکتریایی چون برخی ویبریوها، فلاووباکتریوم‌ها و آیروموناس‌ها همگی از میگوهای پرورشی ایران (چوئیده آبادان) شناسایی شده و ضمن اهمیت‌شان در دامپزشکی آبزیان به‌عنوان بیماری‌های مشترک و همچنین عوامل فساد فرآورده‌ها مطرح‌اند (Seyed mortezaei et al., 2007) اما میکروارگانیسم‌های مزوفیل‌هوازی نیز به‌عنوان معرف شرایط بهداشتی محیط نگهداری و پروسه فرآوری، دارای اهمیت بهداشت عمومی بوده و شمارش آنها دیدگاهی کلی



استاندارد یکی بود و ۶ نمونه (۲۸/۵۷ درصد) دارای میزان بار میکروبی بالاتر از حد مجاز بودند. نتایج مطالعه ما حاکی از وجود آلودگی کلی فرمی در مقادیر متفاوت و در ۸۰/۹۵ درصد از نمونه‌های میگو بود. از دلایل ممکن برای وجود این میزان از آلودگی می‌توان به آلودگی آب استخر پرورش یا محیط صید، آلودگی آب مورد استفاده در تهیه یخ، عدم کفایت بهداشت حمل و نقل و عرضه و نگهداری طولانی در فروشگاه‌ها تا هنگام فروش محصول اشاره کرد. از دیدگاه شیوه‌های بررسی، بهره‌گیری از روش‌های دیگری چون شستشوی لاشه در محیط کشت آب پیتونه بافره یکی از روش‌های ارزیابی میکروبی میگو است که طی یک بررسی در خوزستان با این شیوه میانگین آلودگی میگوها ۲۰۰۰۰ باکتری در هر میلی‌لیتر مایع شستشوی لاشه گزارش شده که ۱۳/۴ درصد از نمونه‌های میگوی خوزستان به باکتری‌های جنس سالمونلا آلوده بودند (Sana and Hosseini siahi., 2018). این در حالیست که حداقل میزان بار آلودگی کلی در نمونه‌های مطالعه ما ۳۳۰۰۰۰ باکتری در هر گرم از بافت میگوی مورد آزمایش بوده است (پوسته خارجی و عضله میگو) که به واسطه نمونه‌گیری و سنجش از خود بافت بدن (۲۵ گرم از بدن هر نمونه میگو) این میزان از آلودگی دیده شده است. حقیقت دیگر در ارتباط با موضوع بار میکروبی سطحی و آلودگی بالای سطح بدن میگو این است که شرایط عرضه این محصول در کنار گوشت قرمز و مرغ در فروشگاه‌ها می‌تواند بر میزان و شدت آلودگی کلی باکتریایی میگو موثر باشد چرا که به‌طور کلی آلودگی کلی فرمی در این گوشت‌ها بیش از آبزیان است. هرچند

آشکار بوده است (Razzaghi manesh *et al.*, 2012). در بررسی ما آلودگی در بیش از ۵۷ درصد از نمونه‌های میگوی کرمان به کلی فرم مدفوعی تنها در فصل پاییز دیده شده و دور از ذهن نیست که میزان آلودگی احتمالی در فصل تابستان و در نمونه‌های ذخیره شده از فصل صید گذشته از این مقدار نیز بالاتر باشد. چنانچه عاملی چون دسترسی محدود و گرانی قیمت میگوی خارج فصل منجر به کاهش تقاضای خرید و متعاقباً ذخیره‌سازی غیر اصولی مقادیری میگو در فروشگاه‌ها گردد مشاهده میگوهای با بار آلودگی کلیفرمی بیشتر در خارج از فصول صید پدیده‌ای محتمل خواهد بود. میکروارگانسیم‌های آب استخر پرورش میگو را به عنوان نقطه آغاز آلودگی به باکتری نباید نادیده گرفت کمابینه آلودگی‌های کلی میکروبی آب مزارع پرورش میگو بین  $10^2 \times 0/21$  تا  $10^3 \times 15/3$  واحد تشکیل‌دهنده پرگنه در میلی‌لیتر گزارش شده، هرچند که این میزان کمتر از بار میکروبی واپسین در خود میگوهاست (Jeyasekaran *et al.*, 2006; Yousuf *et al.*, 2008; Hooshmand *et al.*, 2009; Sana and Hosseini siahi., 2018; Zeng *et al.* 2020). این واقعیت گواه تزايد باکتری‌ها و یا رخداد آلودگی‌های جدید در فرایندهای پس از صید تا عرضه به مصرف‌کننده است.

سازمان استاندارد ملی ایران حداکثر میزان باکتری‌های مزوفیلیک هوازی در سخت‌پوستان دریایی خام را  $10^7$  CFU/ml تعیین کرده است (ISIRI, 2394-1/2000). بدین ترتیب ۷ نمونه از ۲۱ نمونه این مطالعه (۳۳/۳۳ درصد) دارای بار میکروبی کمتر از حداکثر حد مجاز استاندارد، ۸ نمونه (۳۸/۰۹ درصد) در حد مرزی آلودگی قرار داشتند که تقریباً مقدارش با حد مجاز

درایران دامنه استاندارد آلودگی کلی فرم مدفوعی در محدوده ۴۰۰-۴ باکتری/گرم برای میگو اعلام شده است (ISIRI, 2394-1/2000). در این مطالعه تعداد ۱۷ نمونه (۸۰/۹۵ درصد) در دامنه‌ی استاندارد قرار داشتند ولی ۴ نمونه (۹/۰۵ درصد) آلودگی کلی فرم مدفوعی بالاتر از دامنه‌ی استاندارد را نشان دادند که می‌تواند یک خطر بالقوه برای بهداشت و سلامت جامعه محسوب شود.

یکی از شاخص‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه تعداد باکتری/شیریشیاکلی در هر نمونه بود که براساس روش محتمل‌ترین تعداد از بیش از نیمی از نمونه‌ها (۱/۵۷ درصد) باکتری/شیریشیاکلی جدا شد. منبع اصلی شیریشیاکلی در محیط مدفوع انسان و حیوانات خونگرم است و به همراه آب‌های غیرتصفیه‌شده بیشترین منابع آلودگی مواد غذایی به این میکروب هستند و حضور شیریشیاکلی در فرآورده‌های دریایی به‌طور معمول به‌عنوان آلودگی ماده غذایی با یک منشأ مدفوعی مورد توجه قرار می‌گیرد (Karim, 2015). از آنجا که شیریشیاکلی در محیط آبی برای مدت طولانی نمی‌تواند باقی بماند، بنابراین میزان آلودگی به آن در آبزیانی که از ساحل و لایه‌های سطحی‌تر آب برداشت می‌شوند بسیار پایین است. در نتیجه وجود آلودگی/شیریشیاکلی در آبزیان بیشتر مربوط به آلودگی پس از صید هم‌چون دستکاری افراد و صیادان، آلودگی در بازار خرده‌فروش‌ها یا آلودگی در یخ و آبی که در آن نگهداری می‌شود، می‌باشد (Sanath et al., 2001; Prakasan et al., 2022).

در میگوی سفید (*Penaeus occidentalis*) بیشترین تعداد باکتری کل شمارش شده  $10^8 \times 2/7$  واحد تشکیل دهنده پرگنه در گرم گزارش شده است

فرایندها و فرآوری‌های بعدی چون انجماد، پخت و نمک سود کردن بر کاهش میزان بار آلودگی کلی فرمی در میگوها تاثیرگذار است (Vanderzant and Matthys, 1973; Fatima et al., 1988; Tavakoli et al., 2009, Ali et al., 2012; Dumen et al., 2020; Hwang et al., 2021).

نتایج حاصل از شمارش کلی فرم‌های مدفوعی در این مطالعه در محدوده ۱۸۹۸/۳۲-۰ کلی فرم در گرم بود. در حال حاضر از کلی فرم‌های مدفوعی و شیریشیاکلی به‌عنوان شاخص آلودگی مدفوعی غذا و آب استفاده می‌شود و این باکتری‌های شاخص برای نظارت بر وضعیت آلودگی آب‌های ساحلی و غذاهای دریایی بسیار مفید هستند. آلودگی کلی فرمی و کلی فرم مدفوعی در میگوها هنگام پرورش میگو تابع د چون دما، تابش نور خورشید، شوری، پی‌اچ، وجود مجتمع‌های مسکونی، زمین‌های کشاورزی و بازارها و واحدهای گردشگری در اطراف محل پرورش باشد که باعث بالا بردن سطح آلودگی می‌شوند (Mitra and Zaman, 2016). در مرحله‌ی پس از برداشت، افزایش آلودگی کلی فرم مدفوعی می‌تواند به‌دنبال علل مختلفی مثل نوسانات دمایی، دستکاری افراد، کیفیت یخ و آب مصرفی در مراحل مختلف فرآوری و حمل و نقل و همچنین طول دوره فرآوری و حمل و نقل باشد. به‌طور کلی آلودگی به کلی فرم مدفوعی نشان‌دهنده‌ی وجود آلودگی مدفوعی در هر یک از مراحل ذکر شده می‌باشد (Boyd, 1997). فرایندهایی چون ردیف‌سازی (۷/۲۳ درصد)، سایزبندی (۶/۹۳ درصد)، پوست‌کنی (۶/۲۷ درصد) و حتی نازل اسپری‌کننده آب شستشو (۱۴/۰۶ درصد) در انتشار آلودگی کلی فرمی در میگوها موثر شناخته شده اند (Keeratipibul et al., 2009).

و نکومایسین و کارباپنم بود (Ellis- Iversen *et al.*, 2020). اشریشیاکلی جدا شده از محیط دریایی منطقه گناوه (آب دریا و شن‌های ساحلی) دارای حساسیت صددرصدی نسبت به جتتامایسین، سفتریاکسون و سفوتاکسیم بود که مشابه نتایج مطالعه حاضر است (Sardari and Bahador, 2016). تفاوت‌های مشاهده شده در الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اشریشیاکلی می‌تواند ناشی از تفاوت الگوی تجویز و مصرف انواع آنتی‌بیوتیک در مناطق مختلف باشد. وجود مقاومت نسبت به بتالاکتام‌ها در باکتری‌های دریایی می‌تواند به علت انتشار پلاسمیدهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط زیست دریا باشد (Ibargüen- Mondragón *et al.*, 2021).

علیرغم درصد نسبتاً پایین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در این مطالعه، وجود سویه‌های اشریشیاکلی مقاوم به آنتی‌بیوتیک در محیط‌های آبی و آبیان که ناشی از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در صنایع دامپروری، آبی‌پروری و انتشار ترکیبات آنتی‌بیوتیکی از طریق پساب‌های شهری، کشاورزی و دامی در محیط و اکوسیستم‌های آبی می‌باشد؛ همچنان حائز اهمیت است. لذا اقدامات کنترلی در تجویز و مصرف ترکیبات ضد میکروبی جهت پیشگیری از گسترش طیف باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها از منظر بهداشت عمومی و سلامت مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد که این جستار به ویژه توجه دامپزشکان و مسوولین فنی بهداشتی مراکز آبی‌پروری را به استفاده درست و تنها در صورت ضرورت از آنتی‌بیوتیک‌ها در مراکز تکثیر و پرورش جلب می‌نماید.

(Afolayan *et al.*, 2020). بیش از ۸۰ درصد از نمونه‌های این مطالعه دارای میزان آلودگی کمتر از حد استاندارد بودند و کیفیت مناسبی داشتند به گونه‌ای که از ۴۲/۸۵ درصد از نمونه‌ها هیچ‌گونه آلودگی‌ای جدا نشد. ولی در ۱۹/۰۵ درصد از نمونه‌ها شمارش اشریشیاکلی بالاتر از حد مجاز بود که می‌تواند به عنوان یک خطر بالقوه برای بهداشت و سلامت عمومی محسوب شوند (ISIRI, 2394-1/2000).

در بخش دیگری از این مطالعه مقاومت و حساسیت جدایه‌های اشریشیاکلی به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد ارزیابی قرار گرفت. بی‌اثر یا کم‌اثر شدن آنتی‌بیوتیک‌های رایج به دلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها خصوصاً انواعی که مصرف مشترک انسانی دارند، زمینه‌ساز ایجاد مقاومت‌های باکتریایی گسترده و به‌خطر افتادن بهداشت عمومی است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از آنتی‌بیوگرام بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک‌اسید و بیشترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های نیتروفوران‌توئین، سفتریاکسون، آمیکاسین مشاهده شد.

در یک مطالعه در سوییس، مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های اشریشیاکلی از آبیانی از جمله میگو و ماهی سالمون بررسی شد و بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (۲۲ درصد) گزارش شد. از دیگر آنتی‌بیوتیک‌های مشترک بین دو مطالعه می‌توان جتتامایسین و سفوتاکسیم را نام برد که مقاومت نسبت به آن‌ها در سطح پایینی قرار داشت (Boss *et al.*, 2016). بررسی میگوهای وارداتی از آسیا و عرضه شده در خرده‌فروشی‌های دانمارک نشان‌دهنده حساسیت صددرصدی و مقاومت صفر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های

شرایط نامناسب بهداشتی است و بایستی با نظارت بیشتر و همچنین تهیه و آموزش پروتکل‌های صحیح صید، حمل، نگهداری و آماده‌سازی میگو، بهداشت و کیفیت میگوهای عرضه‌شده را افزایش داد.

سنجش میزان آلودگی کلی فرمی، کلی فرم مدفوعی و اشریشیاکلی در میگوهای فروخته‌شده در سطح شهر کرمان می‌تواند اطلاعات اپیدمیولوژیکی مفیدی را در اختیار مقامات بهداشت عمومی برای بهبود شرایط ایمنی مواد غذایی و بهداشت عمومی فراهم کند. آلودگی به کلی فرم مدفوعی و اشریشیاکلی حاکی از

## منابع

- Abdulhai, H., Madani, V., Nowrozi, Sh. And Hajebnejad, K. (2019). Shrimp propagation and cultivation in Iran and the future prospects of the industry. *shrimp and crustaceans*. 4(1): 4-8. [In Persian]
- Afolayan, O.A., Moruf, R.O. and Lawal-Are, A.O. (2020). Bacterial contamination and heavy metal residues in frozen shellfish retailed within Lagos Metropolis, Nigeria. *Science World Journal*, 15(1): 11-14
- Boss, R., Overesch, G. and Baumgartner, A. (2016). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli*, *Enterococci*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* from raw fish and seafood imported into Switzerland. *Journal of food protection*, 79(7): 1240-1246.
- Ali, M.Y., Hossain, M.B. and Shamsuddin, M. (2012). Microbiological status in a fully export oriented shrimp processing plant. *World Applied Sciences Journal*, 16(7): 903-906.
- Boyd, C.E. (1997). Practical aspects of chemistry in pond aquaculture. *The Progressive Fish-Culturist*, 59(2): 85-93.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI) (2016). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. Wayne: PA; CLSI supplement M100S.
- Chandrapati, S. and M. G. Williams. (2014). "Total viable counts| Most Probable Number (MPN)." pp.621- 624.
- de Miranda, J. O., de Sá Oliveira, S. A., de Sales, S. L. R., Rosa, D. S., Coelho, J. X., da Costa, M. M., et al. (2022). Prevalence, biofilm formation, and antimicrobial resistance of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* isolates from goat meat marketed in Petrolina, Brazil. *Food Protection Trends*, 42(2), 139-150.
- Dumen, E., Ekici, G., Ergin, S. and Bayrakal, G.M. (2020). Presence of foodborne pathogens in seafood and risk ranking for pathogens. *Foodborne pathogens and disease*, 17(9): 541-546.
- Ellis-Iversen, J., Seyfarth, A.M., Korsgaard, H., Bortolaia, V., Munck, N. and Dalsgaard, A. (2020). Antimicrobial resistant *E. coli* and enterococci in *Pangasius fillets* and prawns in Danish retail imported from Asia. *Food Control*, 114: 1-6, 106958.
- Fatima, R., Khan, M.A. and Qadri, R.B. (1988). Shelf life of shrimp (*Penaeus merguensis*) stored in ice (0° C) and partially frozen (-3° C). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 42(3): 235-247.
- Hooshmand, H., Seyed mortezae, S.R. and Ahangarzadeh, M. (2009). Investigating the bacterial quality of Bahmanshir river water and shrimp breeding ponds in Choebde- Abadan region. *Iranian Veterinary Journal*. 5(4): 52-58.
- Hwang, C.C., Lin, C.S., Lee, Y.C., Wei, C.I., Tung, H.N., Ou, T.Y., et al., (2021). Physicochemical and microbial quality of prepackaged shrimp processed by a scaled-up microwave-assisted induction heating technology. *Applied Sciences*, 11(20): p.9514.

- Ibargiuen-Mondragón, E., Prieto, K. and HIDALGO-BONILLA, S.P. (2021). A model on bacterial resistance considering a generalized law of mass action for plasmid replication. *Journal of Biological Systems*, 29(02): 375-412.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (ISIRI). (2000). Fish and Shrimp Microbiologic properties. ISIRI No. 2394-1. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (ISIRI). (2018). Microbiology of the food chain - test preparation, initial suspension and decimal dilutions for microbiology test - part 3: special regulations for the preparation of fish and its products. ISIRI No. 8923-3. [In Persian].
- 
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (ISIRI). (2015). Microbiology of the food chain- Horizontal method for enumeration of microorganisms-Part1: Colony count at 30°C by the Pour Plate Technique. ISIRI No. 5272-2. [In Persian].
- 
- Jeyasekaran, G., Ganesan, P., Anandaraj, R., Shakila, R.J., Sukumar D. (2006). Quantitative and qualitative studies on the bacteriological quality of Indian white shrimp (*Penaeus indicus*) stored in dry ice. *Food Microbiology*. 23(6): 526–33.
- Karim., G. (2015). Microbial examinations of food. 6th edition. University of Tehran publications, pp. 36-39 [in Persian].
- Keeratipibul Techaruwichit, P. and, S., Chaturongkasumrit, Y.(2009). Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps. *Food Control*, 20(3) :289-293.
- Mitra, A. and Zaman, S. (2016). Basics of marine and estuarine ecology. Springer. pp.251-261
- Pinu, F.R., Yeasmin, S., BARI, M.L. and Rahman, M.M. (2007). Microbiological conditions of frozen shrimp in different food market of Dhaka city. *Food science and technology research*, 13(4): 362-365.
- Prakasan, S., Lekshmi, M., Ammini, P., Balange, A.K., Nayak, B.B. and Kumar, S.H. (2022). Occurrence, pathogroup distribution and virulence genotypes of *Escherichia coli* from fresh seafood. *Food Control*, 133: 108669.
- Qing, Z.Z., Thorarinsdottir, K. A. and Olafsdottir, G. (2005). 'Quality changes of shrimp (*Pandalus borealis*) stored under different cooling conditions', *Journal of Food Science*, 70(7): S459-S466.
- Rasheed, M.U., Thajuddin, N., Ahamed, P., Teklemariam, Z. and Jamil, K. (2014). Antimicrobial drug resistance in strains of *Escherichia coli* isolated from food sources. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56: 341-346.
- Razzaghi Manesh, M., Ghasemi, A., Rahimi, E., Shakrian, A., Dadar, . (2012). "Study of contamination with *Salmonella* serotypes in shrimp, lobster and fish sold in Isfahan market", *Veterinary research and biological products*, 26(2): 15-19.
- Safaian, Sh., Moghadam, Z., Hosseini, H. and Esmaili, A. (2014). Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from the intestine of wild Carp in Anzali lagoon. *Environmental Science and Technology Quarterly*, 15(4): 65-74 [In Persian].
- Sana, M.J. and Hosseini Siah, Z. (2018). The determination of total microbial count and prevalence of *Salmonella* in the shrimp supply in Khuzestan province. *Iranian Journal of Health and Environment*, 11(2): 149-156.
- Sanath Kumar, H., Ota, S.K., Karunasagar, I. and Karunasagar, I. (2001). Detection of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) in fresh seafood and meat marketed in Mangalore, India by PCR. *Letters in Applied Microbiology*, 33(5): 334-338.
- Sanz, C., Casado, M., Navarro-Martin, L., Cañameras, N., Carazo, N., Matamoros, V. *et al.*, (2022). Implications of the use of organic fertilizers for antibiotic resistance gene distribution in agricultural soils and fresh food products. A plot-scale study. *Science of the Total Environment*, 815: 1-12 (p.151973).

- Sardari, R. and Bahador, N. (2016). Phylogenetic analysis and antibiotic pattern determination of *Escherichia coli* strains isolated from the coasts of Ganaveh region. *Marine Biology*, 8(32):13-20 [In Persian].
- Seyed Mortezaei, S.R., Kor, N.M., Tamjidi, B., and Jahanshahi, A.A. (2007). Bacterial contamination in shrimp farms in ABADAN area. *Pajouhesh-va Sazandegi*. 20(2): (75In *Animal and Fisheries Sciences*) 160-165. [In Persian].
- Swanson, K., Petran, R. and Hanlin, J. (2001). Culture methods for enumeration of microorganisms, In: Pouch Downes, F. and Ito, K. (Editors), *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 4th Edition, American Public Health Association, Washington DC, pp:53-62
- Tavakoli, H. R., Hosseini, H. and Khaksar, R. (2009). Bacteriological quality evaluation of salted fishes that are produced traditionally in the North of Iran. *Iran's food sciences and industries*, 21(6):105- 111. [In Persian].
- Vanderzant, C., Matthys, A.W. and Cobb III, B.F. (1973). Microbiological, chemical, and organoleptic characteristics of frozen breaded raw shrimp. *Journal of Food Protection*, 36(5): 253-261.
- Xie, J., Jin, L., He, T., Chen, B., Luo, X., Feng, B. *et al.*, (2018). Bacteria and antibiotic resistance genes (ARGs) in PM<sub>2.5</sub> from China: implications for human exposure. *Environmental science & technology*, 53(2): 963-972.
- Yousuf, A.H.M., Ahmed, M.K., Yeasmin, S., Ahsan, N., Rahman, M.M. and Islam, M.M. (2008). Prevalence of microbial load in shrimp, *Penaeus monodon* and prawn, *Macrobrachium rosenbergii* from Bangladesh. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(5): 852-855.
- Zeng, S., Khoruamkid, S., Kongpakdee, W., Wei, D., Yu, L., Wang, H., et al. (2020). Dissimilarity of microbial diversity of pond water, shrimp intestine and sediment in Aquamimicry system. *AMB Express*, 10(1): 1-11.