Food Hygiene, Vol. 13, No. 52, Winter 2024

"Research article" **DOI: 10.71876/jfh.2024.3071411**

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

Fatehi, F.[1], Bagheri, M.[2], Sattari, A.[3*]

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 3.3×10^5 to 8×10^8 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» DOI: 10.71876/jfh.2024.3071411

تعیین بار میکروبی کلی، آلودگی کلی‌فرمی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اشریشیاکلی* در میگوی عرضه‌شده در شهر کرمان

کیفیت میکروبی میگو در شهر کرمان

فائزه فاتحی[۱]، محبوبه باقری[۲]، امیرستاری[۳*]

۱- دانش‌آموخته 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)، کلی‌فرم، کلی‌فرم 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 آنتی‌بیوتیکی ۱۲۵ جدایه‌ی *اشریشیاکلی* در برابر ۹ آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم، سیپروفلوکساسین، نیتروفورانتوئین، جنتامایسین، سفکسیم، آمیکاسین، سولفامتوپریم، سفتریاکسون و نالیدیکسیک اسید به روش انتشار دیسک مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین میزان بار میکروبی ۸×۱۰^{۸} CFU/ml و کمترین میزان آن $۳/۳\times۱۰^{۵}$ CFU/ml بود. شمارش کلی‌فرم در نمونه‌ها از صفرکلی‌فرم در گرم درچهار نمونه (۱۹درصد) تا ۴۳۸۳/۹۷ کلی‌فرم درگرم متغیر بود. همچنین شمارش کلی‌فرم‌های مدفوعی در این مطالعه در دامنه‌ی ۱۸۹۸/۳۲-۰ کلی‌فرم مدفوعی درگرم بود و در ۹ نمونه (۴۲/۸۶ درصد) کلی‌فرم مدفوعی مشاهده نشد. باکتری *اشریشیاکلی* از ۵۷/۱۴ درصد از نمونه‌ها جدا شد. بیشترین مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید (۱۶/۸ درصد) و بیشترین حساسیت در برابر آنتی‌بیوتیک نیتروفورانتوئین و آمیکاسین (۹۹/۲ درصد) مشاهده شد. وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه ها نگران‌کننده نبود اما آلودگی به کلی‌فرم 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 میگو های عرضه شده را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: میگو، شمارش کلی، کلی‌فرم مدفوعی، *اشریشیاکلی*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مقدمه

میگـو یـک منبــع پـروتئین دریـایی پرطرفـدار در سراسـر جهان است که ارزش غذایی و اقتصادی بـالایی دارد (Qing *et al*., 2005). صنعت میگـو بـه‌عنوان یـک صنعت جدید در اقتصاد کشور مطرح می‌باشد و در طی سه دهه گذشته تولید میگوی پرورشی به‌حدود ۴۵ هزار تن در سال رسیده است. این موضوع درحالی است کـه میزان صید دریایی میگو درطی سال‌های گذشته همیشـه بین ۴ تا ۸ هزار تـن ثابـت بـوده اسـت (Abdulhai *et al*.,2019).

بیماری‌هـــای منتقلـــه از غـــذا طیـــف وســـیعی از بیماری‌هایی هستند که پـس‌از خـوردن غـذاهای آلـوده بروز پیدا می‌کنند و سالیانه منجر به خسـارات اقتصـادی چشمگیر و موارد بستری و مرگ‌ومیر فـراوان می‌شـوند. غـذاهای دریـایی به‌خصـوص میگـو نقـش مهمـی در بیماری‌هـای غـذازاد دارنـد (Abdolhai *et al*., 2019). کلی‌فرم‌ها در علم ایمنی مواد غذایی به‌عنوان شاخصی از وضعیت بهداشتی فراوری مـاده غـذایی مطـرح هسـتند. *اشریشیاکلی* به‌عنوان شاخص آلودگی مدفوعی در آب و مواد غذایی مطرح می‌باشـد و همچنـین بـه‌عنوان گونـه شاخص در مطالعات مربوط‌به بررسی وضعیت مقاومـت آنتی‌بیوتیکی در میکروفلـور حیوانـات مزرعـه و انسـان مورد استفاده قرار می‌گیرد (de Miranda *et al*., 2022). در سال‌های اخیر موضوع مقاومت آنتی‌بیـوتیکی بـه‌یک نگرانی جهانی و چالش مهم در مبحث سلامت عمـومی تبدیل شده است و به‌طور گسترده‌ای درمیـان حیوانـات، آبزیان و انسـان درحـال گسـترش می‌باشـد. ایـن رونـد موجب ناکامی در درمان عفونت‌ها شده اسـت (Xie *et al*., 2018). آنتی‌بیوتیک‌هـا بـرای درمـان عفونت‌هـا در انسان‌ها، حیوانات و آبزیان مصرف می‌شوند و همچنـین در مزارع پرورشـی بـه‌عنوان مکمل‌هـای غـذایی مـورد استفاده قـرار می‌گیرنـد. میکروارگانیسـم‌های مقـاوم یـا عوامل مقاومـت آنتی‌بیـوتیکی از طریـق فاضـلاب وارد رودخانه‌ها شده و با آلوده شدن آب و محیط بـه آبزیـان منتقـل می‌شـوند (Sanz *et al*., 2022). ازآن‌جایی‌کـه باکتری‌هایی چون *اشریشیاکلی* به زنجیره غـذایی انسـان راه پیدا می‌کننـد نقـش بـالقوه‌ی آن‌هـا بـه‌عنوان مخـزن ژن‌هـــای مقاومـــت آنتی‌بیـــوتیکی غیرقابل‌انکـــار اســـت (Rasheed *et al*., 2014).

باتوجه به دستکاری زیاد میگو در پروسـه‌ی صـید، حمل‌ونقل، آماده‌سازی و مخاطرات ناشی از آن، داشـتن اطلاعات کافی از وضعیت ایمنی و بهداشتی آن ضروری بـــه‌نظر می‌رســـد. تابـــه‌حال مطالعـــه‌ای در خصـــوص شاخص‌های کیفی و بهداشتی مربوط‌به این ماده غـذایی مانند تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها و میزان آلـودگی ایـن فرآورده بـه کلی‌فرم‌هـا در شـهر کرمـان بـه‌عنوان مرکـز وسیع‌ترین استان کشور صورت نپذیرفته است. از طرفی مطالعـات محـدودی درمـورد مقاومـت آنتی‌بیـوتیکی جدایه‌های *اشریشیاکلی* از میگو انجام شده است و برای آنکه بتوان اسـتراتژی مناسـبی بـرای تجـویز و مصـرف آنتی‌بیوتیک‌هـا داشـت لازم اسـت کـه درک درسـتی از وضعیت مقاومـت آنتی‌بیـوتیکی در جمعیـت میکروبـی آبزیان داشته باشیم. هدف از این مطالعه ارزیـابی تعـداد کلی میکروارگانیسم‌ها، میزان آلـودگی بـه کلی‌فرم‌هـا و تعیـین الگـوی مقاومـت آنتی‌بیـوتیکی سـویه هـای *اشریشیاکلی* در نمونـه‌های میگـوی اخـذ شـده از شـهر کرمان بود.

مواد و روش‌ها

به منظور تهیه نمونه میگو و آماده‌سازی رقت‌های متوالی تعداد بیست‌ویک نمونه میگوی کامل به صورت تصادفی درفاصله بین مهر تا آذرماه ۱۴۰۰ از فروشگاه‌های ماهی و میگوی سطح شهر کرمان تهیه و با حفظ زنجیره سرما به آزمایشگاه بهداشت موادغذایی 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 درهر 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 براث (Quelab, Canada) حاوی لوله دورهام تهیه شد (هر رقت سه لوله) و از هر رقت یک میلی لیتر 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 دورهام 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 براث (Biolife, Italy) حاوی لوله دورهام تلقیح انجام شد. سپس لوله‌ها در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. در ادامه جهت تخمین تعداد کلی‌فرم درهر 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:

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

a = نسبت رقیق‌سازی (۱۰ تایی)

n = تعداد لوله‌ها در هر رقت

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

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 گرمخانه گذاری انجام شد. در صورت رشد کلنی‌های سبزرنگ با جلای فلزی *اشریشیاکلی* مشکوک تلقی شد. تایید جدایه‌ها از طریق آزمون‌های بیوشیمیایی انجام شد. در این مرحله جدایه‌های انتخاب شده در محیط های TSI، SIM، MRVP و سیترات (Merck, Germany) کشت داده شدند. در ادامه جدایه‌ها بر اساس نتایج تست‌های بیوشیمیایی به عنوان باکتری *اشریشیاکلی* مورد تأیید قرار گرفتند. در صورت تایید کلنی *اشریشیاکلی*، لوله‌ی مربوطه از نظر *اشریشیاکلی* مثبت تعیین شد (Chandrapati and Williams, 2014).

در نهایت جهت انجام بررسی مقاومت فنوتیپی آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *اشریشیاکلی* هر یک از جدایه‌ها در براث 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-هینتون (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.

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

نوع آنتی‌بیوتیک	کد	حساس	نیمه‌حساس	مقاوم
ونکومایسین	V	≤۱۷	۱۶-۱۵	≥۱۴
آمیکاسین	AN	≤۱۷	۱۶-۱۵	≥۱۴
جنتامایسین	GM	≤۱۵	۱۴-۱۳	≥۱۲
سیپروفلوکساسین	CP	≤۲۱	۲۰-۱۶	≥۱۵
تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول	SXT	≤۱۶	۱۵-۱۱	≥۱۰
نیتروفورانتوئین	FM	≤۱۷	۱۶-۱۵	≥۱۴
سفتری‌اکسون	CRO	≤۱۸	۱۷-۱۳	≥۱۲
نالیدیکسیک‌اسید	NA	≤۱۹	۱۸-۱۴	≥۱۳
سفوتاکسیم	CTX	≤۲۶	۲۵-۲۳	≥۲۲
سفیکسیم	CFM	≤۱۹	۱۸-۱۴	≥۱۳

یافته‌ها

-شمارش کلی میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی

نتایج حاصل از شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها نشان داد که بیشترین میزان بار میکروبی ۸×۱۰^{۸} CFU/ml (log CFU/ml۸/۹) و کمترین میزان $۳/۳\times۱۰^{۵}$ CFU/ml (log CFU/ml ۵/۵۲) بود

براساس نتایج شمارش کلی‌فرم‌ها به روش بیشترین تعداد احتمالی، تعداد کلی‌فرم‌ها در نمونه‌های ما از صفر در چهار نمونه تا $۴۳/۸۴\times۱۰^{۲}$ کلی‌فرم 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 کلی‌فرم در هر گرم ماده غذایی بود. نتایج حاصل از شمارش کلی‌فرم‌های مدفوعی در دامنه $۰-۱۸/۹۸\times۱۰^{۲}$ کلی‌فرم مدفوعی در گرم بود. به‌طور کلی از ۵۷/۱۴ ٪ از نمونه‌ها باکتری‌های کلی‌فرم مدفوعی جدا شد و در تعداد ۹ نمونه (۴۲/۸۶ ٪) با روش بیشترین تعداد احتمالی کلی‌فرم مدفوعی شناسایی نشد. نتایج در جدول ۲ به‌صورت خلاصه آورده شده است.

جدول ۲ – نتایج شمارش میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی، کلی‌فرم‌ها، کلی‌فرم مدفوعی و *اشریشیا کلی*

ردیف	کد نمونه	شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها		شمارش کلی‌فرم			شمارش کلی‌فرم مدفوعی			شمارش *اشریشیاکلی*		
		واحد تشکیل دهنده کلنی/گرم	لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی/گرم	محتمل ترین تعداد/گرم	حدود اطمینان ۹۵٪		محتمل ترین تعداد/گرم	حدود اطمینان ۹۵٪		محتمل ترین تعداد/گرم	حدود اطمینان ۹۵٪	
					پایین‌ترین	بالاترین		پایین‌ترین	بالاترین		پایین‌ترین	بالاترین
۱	۷/۲۲ (۱)	$۴/۴ \times ۱۰^{۶}$	۶/۶۴	۳۵/۹	۱۵/۷۱	۸۲/۰۵	۰	–	–	۰	–	–
۲	۷/۲۲ (۲)	$۶/۴۵ \times ۱۰^{۷}$	۷/۸۱	۴۵۷/۰۶	۱۹۹/۹۷	۱۰۴۴/۶۶	۳۰/۴۹	۱۳/۳۴	۶۹/۶۹	۳۰/۴۹	۱۳/۳۴	۶۹/۶۹
۳	۷/۲۹ (۳)	$۱/۹۳ \times ۱۰^{۶}$	۶/۲۹	۰	–	–	۰	–	–	۰	–	–
۴	۷/۲۹ (۴)	$۸/۸۳ \times ۱۰^{۷}$	۷/۹۵	۹۵/۰۳	۴۱/۵۸	۲۱۷/۲۰	۰	–	–	۰	–	–
۵	۸/۸ (۵)	$۱/۸۹ \times ۱۰^{۷}$	۷/۲۸	۳۵/۹۰	۱۵/۷۱	۸۲/۰۵	۳۵/۹۰	۱۵/۷۱	۸۲/۰۵	۳۵/۹۰	۱۵/۷۱	۸۲/۰۵
۶	۸/۸ (۶)	$۲/۴۱ \times ۱۰^{۷}$	۷/۳۸	۰	–	–	۰	–	–	۰	–	–
۷	۸/۸ (۷)	$۱/۹۱ \times ۱۰^{۷}$	۷/۲۸	۰	–	–	۰	–	–	۰	–	–
۸	۸/۱۳ (۸)	$۳/۳ \times ۱۰^{۵}$	۵/۵۲	۰	–	–	۰	–	–	۰	–	–
۹	۸/۱۳ (۹)	$۱/۴ \times ۱۰^{۵}$	۵/۶۱	۹۵/۰۳	۴۱/۵۸	۲۱۷/۲۰	۰	–	–	۰	–	–
۱۰	۸/۱۳ (۱۰)	$۱/۲ \times ۱۰^{۸}$	۸/۰۸	۴۵۷/۰۶	۱۹۹/۹۷	۱۰۴۴/۶۶	۷۳/۳۹	۳۲/۱۱	۱۶۷/۷۴	۳۰/۴۹	۱۳/۳۴	۶۹/۶۹
۱۱	۸/۲۷ (۱۱)	$۵/۷ \times ۱۰^{۷}$	۷/۷۶	۱۵۰/۵۵	۶۵/۸۷	۳۴۴/۱۰	۶۱/۰۸	۲۶/۷۲	۱۳۹/۶۰	۶۱/۰۸	۲۶/۷۲	۱۳۹/۶۰
۱۲	۸/۲۷ (۱۲)	$۸/۱۳ \times ۱۰^{۶}$	۶/۹۱	۲۲۶/۸۹	۹۹/۲۷	۵۱۸/۵۸	۱۲۲/۵۴	۵۳/۶۱	۲۸۰/۰۸	۱۲۲/۵۴	۵۳/۶۱	۲۸۰/۰۸
۱۳	۹/۲ (۱۳)	$۲/۵۶ \times ۱۰^{۷}$	۷/۴۱	۶۱/۹۵	۲۷/۱۰	۱۴۱/۵۹	۶۱/۹۵	۲۷/۱۰	۱۴۱/۵۹	۶۱/۹۵	۲۷/۱۰	۱۴۱/۵۹
۱۴	۹/۲ (۱۴)	$۲/۱\times ۱۰^{۷}$	۷/۳۲	۱۰۸/۱۷	۴۷/۳۳	۲۴۷/۲۳	۱۰۸/۱۷	۴۷/۳۳	۲۴۷/۲۳	۱۰۸/۱۷	۴۷/۳۳	۲۴۷/۲۳
۱۵	۹/۴ (۱۵)	۸×۱۰^{۸}	۸/۹	۴۹۲/۱۲	۲۱۵/۳۱	۱۱۲۴/۷۹	۴۹۲/۱۲	۲۱۵/۳۱	۱۱۲۴/۷۹	۴۹۲/۱۲	۲۱۵/۳۱	۱۱۲۴/۷۹
۱۶	۹/۴ (۱۶)	$۲/۴۶ \times ۱۰^{۸}$	۸/۳۹	۴۳۸۳/۹۷	۱۹۱۸/۰۸	۱۰۰۲۰	۱۱۵۶/۵۹	۵۰۶/۰۳	۲۶۴۳/۵۰	۱۱۵۶/۵۹	۵۰۶/۰۳	۲۶۴۳/۵۰
۱۷	۹/۴ (۱۷)	$۱/۱۳ \times ۱۰^{۸}$	۸/۰۵	۷۱۷/۵۰	۳۱۳/۹۲	۱۶۳۹/۹۲	۵۴۸/۱۷	۲۵۵/۵۹	۱۳۳۵/۱۸	۵۸۴/۱۷	۲۵۵/۵۹	۱۳۳۵/۱۸
۱۸	۹/۶ (۱۸)	$۳/۵ \times ۱۰^{۸}$	۸/۵۴	۱۸۹۸/۳۲	۸۳۰/۵۶	۴۳۳۸/۸۰	۱۸۹۸/۳۲	۸۳۰/۵۶	۴۳۳۸/۸۰	۱۸۹۸/۳۲	۸۳۰/۵۶	۴۳۳۸/۸۰
۱۹	۹/۶	$۲/۴۵ \times ۱۰^{۸}$	۸/۳۹	۳۱۲/۰۸	۱۳۶/۵۴	۷۱۳/۲۹	۳۱۲/۰۸	۱۳۶/۵۴	۷۱۳/۲۹	۳۱۲/۰۸	۱۳۶/۵۴	۷۱۳/۲۹

۲۰	۹/۱۸ (۱۹، ۲۰)	۲/۲۳ × ۱۰^۶	۶/۳۵	۱۱۰/۳۴	۴۸/۲۸	۲۵۲/۱۹	۰	–	–	۰	–	–
۲۱	۹/۱۸ (۲۱)	۸/۳ × ۱۰^۶	۶/۹۲	۱۹۲/۷۸	۸۴/۳۵	۴۴۰/۶۲	۰	–	–	۰	–	–

به‌طورکلی از ۵۷/۱۴ درصد از نمونه‌ها باکتری *اشریشیاکلی* جدا شد. در مجموع تعداد ۱۲۵ سویه *اشریشیاکلی* 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 جدایه ها و درصد جدایه‌های مقاوم، نیمه حساس و حساس به تفکیک نسبت به آنتی بیوتیک های آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، تریمتوپریم سولفامتوکسازول، نیتروفورانتویین، سفتریاکسون، نالیدیکسیک اسید، سفوتاکسیم و سفیکسیم در ۱۲۵ جدایه‌ی *اشریشیاکلی*

آنتی‌بیوتیک مورد بررسی	تعداد جدایه های حساس (درصد)	تعداد جدایه های نیمه‌حساس (درصد)	تعداد جدایه های مقاوم (درصد)
آمیکاسین	۱۲۴ (٪۹۹/۲)	۱ (٪۰/۸)	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)
نیتروفورانتویین	۱۲۴ (٪۹۹/۲)	۱ (٪۰/۸)	۰ (٪۰)
سفتریاکسون	۱۲۳ (٪۹۸/۴)	۲ (٪۱/۶)	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

اگرچه عوامل باکتریایی چون برخی ویبریوها، فلاووباکتریوم‌ها و آیروموناس‌ها همگی از میگوهای پرورشی ایران (چوئبده آبادان) شناسایی‌شده و ضمن اهمیت‌شان در دامپزشکی آبزیان به‌عنوان بیماری‌های مشترک و همچنین عوامل فساد فراورده‌ها مطرح‌اند (Seyed mortezaei *et al*., 2007) اما میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی نیز به‌عنوان معرف شرایط بهداشتی محیط نگهداری و پروسه فرآوری، دارای اهمیت بهداشت عمومی بوده و شمارش آنها دیدگاهی کلی نسبت به میزان آلودگی نمونه‌ها و کیفیت میکروبی آن‌ها به دست می‌دهد.

دراین مطالعه بازه زمانی مهر تا آذر ماه (فصل عرضه میگوی تازه در کرمان) برای نمونه گیری 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 بررسی ها 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

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 متعاقبا ذخیره‌سازی غیر اصولی مقادیری میگو در فروشگاه‌ها گردد مشاهده میگوهای با بار آلودگی کلیفرمی بیشتر در خارج از فصول صید پدیده ای محتمل خواهد بود. میکروارگانسیم‌های آب استخر پرورش میگو را به عنوان نقطه آغاز آعشتگی به باکتری نباید نادیده گرفت کمااینکه آلودگی‌های کلی میکروبی آب مزارع پرورش میگو بین $۱۰^{۲} \times ۰/۲۱$ تا $۱۰^{۳} \times ۱۵/۳$ 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 تزاید باکتری ها 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 $۱۰^{۷}$ 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) درحد مرزی آلودگی قرار داشتند که تقریبا مقدارش با حد مجاز 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 کلی‌فرمی 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 تهیه‌ی یخ، عدم کفایت بهداشت حمل‌ونقل و عرضه و نگهداری طولانی در فروشگاه‌ها تا هنگام فروش محصول اشاره کرد. از دیدگاه شیوه های بررسی، بهره گیری از روش های دیگری چون شستشوی لاشه در محیط کشت آب پپتونه بافره یکی از روش‌های ارزیابی میکروبی میگوست 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 (۲۵گرم از بدن هر نمونه میگو) این میزان ازآلودگی 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 کلی‌فرمی در این گوشت‌ها بیش از آبزیان است. هرچند

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 کلی‌فرم‌های مدفوعی در این مطالعه در محدوده ۱۸۹۸/۳۲-۰ کلی‌فرم در گرم بود. در حال حاضر از کلی‌فرم‌های مدفوعی و *اشریشیاکلی* 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 کلی‌فرمی و کلی‌فرم مدفوعی در میگوها هنگام پرورش میگو تابع د چون دما، تابش نور خورشید، شوری، پی اچ، وجود مجتمع‌های مسکونی، زمین های کشاورزی و بازارها و واحدهای گردشگری دراطراف محل پرورش باشد که باعث بالا بردن سطح آلودگی می‌شوند (Mitra and Zaman, 2016). در مرحله‌ی پس از برداشت، افزایش آلودگی کلی‌فرم مدفوعی می‌تواند به‌دنبال علل مختلفی مثل نوسانات دمایی، دستکاری افراد، کیفیت یخ و آب مصرفی در مراحل مختلف فرآوری و حمل‌ونقل و همچنین طول دوره فرآوری و حمل‌ونقل باشد. به‌طور کلی آلودگی به کلی‌فرم مدفوعی نشان‌دهنده‌ی وجود آلودگی مدفوعی در هر یک از مراحل ذکر شده می‌باشد (Boyd, 1997). فرایندهایی چون ردیف‌سازی (۷/۲۳ درصد)، سایزبندی (۶/۹۳درصد)، پوست‌کنی (۶/۲۷درصد) و حتی نازل اسپری‌کننده آب شستشو (۱۴/۰۶درصد) در انتشار آلودگی کلی فرمی در میگوها موثر شناخته شده اند (Keeratipibul *et al*., 2009).

درایران دامنه استاندارد آلودگی کلی‌فرم مدفوعی در محدوده ۴۰۰-۴ باکتری/گرم برای میگو اعلام شده‌است (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 *اشریشیاکلی* در هر نمونه بود که براساس روش محتمل‌ترین تعداد از بیش از نیمی از نمونه‌ها (۱/۵۷ درصد) باکتری *اشریشیاکلی* جدا شد. منبع اصلی *اشریشیاکلی* در محیط مدفوع انسان و حیوانات خونگرم است و به همراه آب‌های غیرتصفیه‌شده بیشترین منابع آلودگی موادغذایی به این میکروب هستند و حضور *اشریشیاکلی* در فرآورده‌های دریایی به‌طور معمول به‌عنوان آلودگی ماده غذایی با یک منشاء مدفوعی مورد توجه قرار می‌گیرد (Karim, 2015). از آنجا که *اشریشیاکلی* 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 *اشریشیاکلی* 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 $۲/۷ \times ۱۰^{۸}$ واحد تشکیل دهنده پرگنه‌در گرم گزارش شده است

(Afolayan *et al.*, 2020). بیش از ۸۰ درصد از نمونه‌های این مطالعه دارای میزان آلودگی کمتر از حد استاندارد بودند و کیفیت مناسبی داشتند به‌گونه‌ای 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 میتوانند 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. بی اثر یا کم اثر شدن آنتی بیوتیک های 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. باتوجه 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 آبزیانی 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 جنتامایسین 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 نشان‌دهنده‌ی حساسیت صددرصدی و مقاومت صفر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین 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 جنتامایسین، 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 بتالاکتام ها در باکتری‌های دریایی می‌تواند به علت انتشار پلاسمیدهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط زیست دریا باشد (Ibargüen-Mondragón *et al.*, 2021).

علیرغم درصد نسبتا پایین مقاومت به آنتی‌بیوتیک های مورد بررسی در این مطالعه، وجود سویه‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به آنتی‌بیوتیک در محیط‌های آبی و آبزیان که ناشی از مصرف بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها در صنایع دامپروری، آبزی‌پروری 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 ضدمیکروبی جهت پیشگیری از گسترش طیف باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک ها از منظر بهداشت عمومی و سلامت مواد غذایی ضروری به‌نظر می‌رسد که این جستار به ویژه توجه دامپزشکان و مسوولین فنی بهداشتی مراکز آبزی‌پروری را به استفاده درست و تنها در صورت ضرور از آنتی‌بیوتیک‌ها در مراکز تکثیر و پرورش جلب می‌نماید.

سنجش میزان آلودگی کلی‌فرمی، کلی‌فرم مدفوعی و *اشریشیاکلی* در میگوهای فروخته‌شده در سطح شهر کرمان می‌تواند اطلاعات اپیدمیولوژیکی مفیدی را دراختیار مقامات بهداشت عمومی برای بهبود شرایط ایمنی مواد غذایی و بهداشت عمومی فراهم کند. آلودگی به کلی‌فرم 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، بهداشت و کیفیت میگوهای عرضه‌شده را افزایش داد.

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 merguiensis) 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 mortezaee, 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.

- Ibargüen-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 Siahi, 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., Otta, 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 PM2. 5 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.