میزان آلودگی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از ماهی و میگو صید شده از خلیج فارس

ندا نوروزی[1]، حسن ممتاز[2*]، الهه تاجبخش[3]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲. گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

***نویسنده مسئول**: *hamomtaz@yahoo.com, hamomtaz@iaushk.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۶

چکیده

مطالعه حاضر به منظور ارزیابی میزان آلودگی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه‌های ماهی و میگو صید شده از خلیج فارس انجام شد. در کل ۲۴۰ نمونه آبزیان صید شده از خلیج فارس شامل ۱۲۰ نمونه ماهی و ۱۲۰ نمونه میگو از استان بوشهر جمع آوری شد. حضور *انتروکوکوس فکالیس* با استفاده از کشت میکروبی و آزمون‌های بیوشیمیایی تایید شد. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه های *انتروکوکوس فکالیس* با استفاده از روش دیسک انتشاری مورد ارزیابی قرار گرفت. پنجاه و چهار نمونه از کل ۲۴۰ (۲۲/۵۰ درصد) نمونه های مورد مطالعه، آلوده به *انتروکوکوس فکالیس* بودند. آلودگی به *انتروکوکوس فکالیس* در نمونه‌های ماهی و میگو به ترتیب ۳۰ و ۱۵ درصد بود. جدایه‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه‌های ماهی و میگو بیشترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۱۰۰ درصد)، تتراسایکلین (۱۰۰ درصد)، اریترومایسین (۱۰۰ درصد)، سفازولین (۹۰/۷۴ درصد) و تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۸۸/۸۸ درصد) داشتند. مقاومت نسبت به کلرامفنیکل در هیچکدام از جدایه‌ها دیده نشد. نتایج مطالعه نشان داد که ماهی و میگو می‌توانند به عنوان منابع احتمالی *انتروکوکوس فکالیس* مقاوم به آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شوند. بنابراین پخت کامل غذاهای دریایی قبل از مصرف، رعایت بهداشت در مراکز صید و فروش آبزیان می‌تواند از بروز عفونت‌های گوارشی ایجاد شده بوسیله سویه های مقاوم به آنتی‌بیوتیک *انتروکوکوس فکالیس* جلوگیری کند.

کلید واژه ها: *انتروکوکوس فکالیس*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، میگو، ماهی.

مقدمه

فراورده‌های شیلاتی بخش مهمی از تغذیه انسان را تشکیل می‌دهند. این دسته از مواد غذایی علاوه بر خصوصیاتی همچون هضم و جذب بالا، سرشار از پروتئین، مواد معدنی و چربی‌های ضروری برای بدن هستند (Hu and Chan, 2015). با این وجود، امکان بروز آلودگی‌های میکروبی در زمان صید، توزیع و فراوری این دسته از محصولات غذایی وجود دارد (Sheng and Wang, 2021). انتروکوکوس‌ها، کوکسی‌های گرم مثبتی هستند که به صورت همزیست در دستگاه گوارش انسان و سایر حیوانات زندگی می کنند. این باکتری‌ها ارگانیسم‌های بی‌هوازی اختیاری و کاتالاز منفی هستند که توانایی رشد در ۶/۵ درصد نمک و pH بالا (حدود ۹/۶) را دارند (Orababa et al., 2021). شایع ترین انتروکوک‌های دخیل در عفونت‌های انسانی، *انتروکوکوس فکالیس* (۸۵-۹۰ درصد) و *انتروکوکوس فاسیوم* (۵-۱۰ درصد) هستند (Castillo-Rojas et al., 2013). این سویه‌ها معمولا منجر به وقوع عفونت‌های مجاری ادراری، باکتریمی، عفونت‌های داخل شکمی و لگنی، اندوکاردیت و اندوفتالمیت می‌شوند (Ramos et al., 2020). انتروکوکوس‌ها معمولا مقیم دستگاه گوارش انسان و حیوانات هستند. با این وجود، *انتروکوکوس فکالیس* سویه غالب موجود در دستگاه گوارش انسان است (Jacobson et al., 2020; Fang, 2020). مطالعات نشان داده است که برخی از انواع مواد غذایی، خصوصا فراورده‌هایی که انسان نقشی در زنجیره تولید یا فراوری آن‌ها داشته باشد،

منابع *انتروکوکوس فکالیس* هستند (Fang, 2020). توانایی این باکتری‌ها برای مقاومت نسبت به شرایط محیطی سبب شده است تا آن‌ها بتوانند در محصولات غذایی تهیه شده از مواد خام و مواد غذایی حرارت داده شده، پایدار بمانند (Anderson et al., 2016). گزارشات نشان داده اند که سویه های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از مواد غذایی و نمونه‌های بالینی مقاومت بالایی نسبت به اکثر آنتی-بیوتیک‌ها دارند (Sanlibaba et al., 2018; Sirichoat et al., 2020). سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* مقاومت چندگانه به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک ها خصوصا آمینوگلایکوزیدها، پنی سیلین‌ها، برخی سفالوسپورین‌ها، تتراسایکلین‌ها، ماکرولیدها و حتی فنیکل‌ها دارند (Shiadeh et al., 2019). سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک *انتروکوکوس فکالیس* بیماریزایی بیشتری دارند، به سختی درمان می‌شوند و طول دوره بیماری‌های ایجاد شده بوسیله آنها، بیشتر است (Asadollahi et al., 2018). با توجه به مصرف بالای ماهی و میگو در ایران و اهمیت *انتروکوکوس فکالیس* به عنوان یک عامل بیماری‌زا، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی میزان آلودگی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه‌های ماهی و میگو صید شده از خلیج فارس، انجام شد.

روش کار

نمونه ها

در این مطالعه توصیفی-مقطعی، ۲۴۰ نمونه آبزیان شامل ماهی (۱۲۰ نمونه) و میگو (۱۲۰ نمونه) از مراکز فروش واقع در استان بوشهر به صورت تصادفی، جمع‌آوری شد. نمونه ها کاملا سالم بودند و خصوصیات ظاهری و حسی (رنگ، بو و قوام بافتی) مناسبی داشتند. نمونه ها بلافاصله پس از صید از خلیج فارس، خریداری شدند. نمونه ها در عرض یک روز و در یخچال حاوی یخ به مرکز تحقیقات میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل شدند.

جداسازی *انتروکوکوس فکالیس*

براین منظور، پنج گرم از نمونه های ماهی و میگو به صورت جداگانه با ۱۰ میلی‌لیتر بافر PBS مخلوط و سپس یکنواخت شد. سپس ۳۰۰ میکرولیتر از محلول بدست آمده، در یک پلیت حاوی کانامایسین آسکولین آگار پخش شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس، گرمخانه-گذاری گردید. سپس به منظور تایید کلنی‌های رشد یافته در این محیط، از رنگ آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی کاتالاز، اکسیداز، رشد در ۶/۵ درصد نمک و تخمیر قند های آرابینوز، مانیتول، لاکتوز، سوربیتول و سوربوز، استفاده شد (Osek, 2015).

ارزیابی الگوی مقاومت ضدمیکروبی

به منظور ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *انتروکوکوس فکالیس*، از روش Kirby Bauer طبق دستورالعمل Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)، استفاده شد (2018). برای این منظور سوسپانسیون باکتری در محیط TSB تهیه و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد تا کدورت محیط کشت به کدورتی معادل لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند برسد، سپس با استفاده از سواب استریل از باکتری‌های موجود در محیط کشت به صورت متراکم روی محیط کشت مولر هینتون آگار، کشت داده شد. سپس دیسک های آنتی بیوتیکی شامل پنی سیلین (۱۰ میکروگرم/دیسک)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم/دیسک)، تتراسایکلین (۳۰میکروگرم/دیسک)، اریترومایسین (۱۵میکروگرم/دیسک)، کلرامفنیکل (۳۰میکروگرم/دیسک)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۲۵ میکروگرم/دیسک)، سفازولین (۳۰ میکروگرم/دیسک) و کلیندامایسین (۲ میکروگرم/دیسک) (پادتن طب، ایران)، با حفظ فاصله مناسب از یکدیگر، روی محیط قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، قطر هاله عدم رشد باکتری ها در برابر هر آنتی‌بیوتیک به صورت مجزا اندازه گیری شد و با اندازه‌های ذکر شده در دستورالعمل CLSI مقایسه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

پس از انتقال داده‌ها به صفحه گسترده اکسل، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها جهت تعیین ارتباط بین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها با نوع نمونه، با استفاده از آزمون مربع کای و تست دقیق فیشر انجام پذیرفت. در نهایت $p <$ ۰/۰۵ به عنوان حد معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

مطالعه حاضر به منظور ارزیابی میزان آلودگی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه‌های ماهی و میگو صید شده از خلیج فارس انجام شد. جدول ۱ میزان آلودگی با سویه های *انتروکوکوس فکالیس* در نمونه های ماهی و میگو صید شده از خلیج فارس را نشان می دهد. از کل ۲۴۰ نمونه مورد مطالعه، ۵۴ نمونه (۲۲/۵۰ درصد) آلوده به *انتروکوکوس فکالیس* بودند. میزان آلودگی *انتروکوکوس فکالیس* در نمونه های ماهی و میگو به ترتیب ۳۰ درصد و ۱۵ درصد بود. اختلاف آماری معنی دار در حد $p <$ ۰/۰۵ بین نوع نمونه ها و میزان شیوع *انتروکوکوس فکالیس* دیده شد.

جدول ۱- شیوع سویه های *انتروکوکوس فکالیس* در نمونه های ماهی و میگو صید شده از خلیج فارس.

نمونه ها	تعداد جمع آوری شده	تعداد مثبت از نظر *انتروکوکوس فکالیس* (درصد)
ماهی	۱۲۰	۳۶[a] (۳۰)
میگو	۱۲۰	۱۸[b] (۱۵)
کل	۲۴۰	۵۴ (۲۲/۵۰)

(حروف کوچک غیرمشابه نشان‌گر وجود اختلاف آماری معنی دار می باشد).

جدول ۲ میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه‌های ماهی و میگو صید شده از خلیج فارس را نشان می‌دهد. سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه‌های ماهی و میگو صید شده از خلیج فارس بیشترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۱۰۰ درصد)، تتراسایکلین (۱۰۰ درصد) و اریترومایسین (۱۰۰ درصد) داشتند. *انتروکوکوس فکالیس* هیچ مقاومتی نسبت به آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل نداشتند. کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی سیلین (۵۹/۲۵ درصد) دیده شد.

اختلاف آماری معنی‌دار در حد $p <$ ۰/۰۵ بین مقاومت به پنی‌سیلین و کلیندامایسین با سایر آنتی‌بیوتیک ها در جدایه های مربوط به نمونه های میگو و تمام ۵۴ سویه *انتروکوکوس فکالیس* دیده شد.

جدول ۲- میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه های ماهی و میگو صید شده از خلیج فارس

نمونه‌ها (تعداد مثبت از نظر *انتروکوکوس فکالیس*)	الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی (درصد)							
	پنی‌سیلین	جنتامایسین	تتراسایکلین	اریترومایسین	کلرامفنیکل	تری متوپریم-سولفامتوکسازول	سفازولین	کلیندامایسین
ماهی (۳۶)	۲۹ (۸۰/۵)	۳۶ (۱۰۰)	۳۶ (۱۰۰)	۳۶ (۱۰۰)	-	۳۲ (۸۸/۸)	۳۳ (۹۱/۶)	۳۰ (۸۳/۳)

میگو (۱۸)	۳ (۱۸/۷) [a]	۱۸[b] (۱۰۰)	۱۸[b] (۱۰۰)	۱۸[b] (۱۰۰)	-	۱۶[b] (۸۸/۸)	۱۶ (۸۸/۸)[b]	۸[a] (۵۰/۰)
کل (۵۴)	۳۲ (۵۹/۲۵) [a]	۵۴[b] (۱۰۰)	۵۴[b] (۱۰۰)	۵۴[b] (۱۰۰)	-	۴۸[b] (۸۸/۸۸)	۴۹ (۹۰/۷۴)[b]	۳۸[a] (۷۰/۳۷)

(حروف کوچک غیرمشابه نشان گر وجود اختلاف آماری معنی دار می باشد).

بحث

بر مبنای مطالعات انجام شده، انتروکوک‌ها و کلی‌فرم ها به عنوان دو شاخص مهم بهداشتی در مواد غذایی مطرح هستند و تعداد بیش از حد مجاز آن‌ها در مواد غذایی، بیانگر وضعیت نامطلوب بهداشتی می‌باشد. آلودگی به انتروکوکوس در انواع مختلفی از مواد غذایی نظیر سبزیجات، گوشت، شیر و فرآورده‌های لبنی گزارش شده است (Talebi et al., 2015; Ben Said et al., 2016). همچنین میزان آلودگی با انتروکوک‌ها در بین انواع مواد غذایی ۵/۵ تا ۹۹ درصد بوده است (oamargo et al., 2014; Osek, 2015; Tyson et al., 2018) که به نوع ماده غذایی، فصل نمونه گیری، منطقه جغرافیایی و شرایط نگهداری بستگی دارد. در این مطالعه ۲۲/۵۰ درصد از نمونه های ماهی و میگو آلوده به سویه های *انتروکوکوس فکالیس* بودند. دلیل احتمالی آلودگی نمونه های ماهی و میگو در این مطالعه، بروز آلودگی‌های متقاطع در اثر دستکاری‌های انجام شده روی نمونه‌های ماهی و میگو در زمان صید و توزیع بوده است. همچنین این احتمال وجود دارد که آب مورد استفاده برای تهیه یخ به منظور خنک نگه داشتن نمونه‌های ماهی و میگو آلوده به سویه های *انتروکوکوس فکالیس* بوده باشد. الیس-ایورسن و همکاران (۲۰۲۰) گزارش نمودند که ۸۷/۰ درصد از نمونه‌های فیله ماهی و میگو صادر شده از دانمارک به کشورهای آسیایی آلوده به *انتروکوکوس فکالیس* بوده است (Ellis-Iversen et al., 2020). شیوع *انتروکوکوس فکالیس* در نمونه‌های ماهی در برزیل ۴۴/۳ درصد گزارش شده است (Araújo et al., 2021). در ارتباط با منشا *انتروکوکوس فکالیس* در نمونه-های مواد غذایی خام، خصوصا ماهی و میگو، بسیاری از محققان بروز آلودگی‌های متقاطع خصوصا از طریق دست کارکنان مراکز صید و فروش، را دلیل اصلی آلودگی بالای باکتری می‌دانند (NNNShikongo-Nambabi et al., 2012; Igbinosa and Beshiru, 2019)، اما برخی دیگر حضور دائمی *انتروکوکوس فکالیس* در نمونه‌های آب و رسوبات بستر دریا (Di Cesare et al., 2013; do Vale Pereira et al., 2017; Novais et al., 2018) را دلیل شیوع بالای آن در نمونه‌های آبزیان برشمرده اند. دلیل احتمالی بالاتر بودن میزان آلودگی *انتروکوکوس فکالیس* در نمونه‌های میگو احتمالا تغذیه این موجودات به روش فیلتر کردن آب دریا است که منجر به افزایش غلظت باکتری‌های موجود در آب می شود.

سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده در این مطالعه مقاومت زیادی نسبت به آنتی‌بیوتیک های جنتامایسین، تتراسایکلین، اریترومایسین، سفازولین، تری متوپریم-سولفامتوکسازول و کلیندامایسین داشتند. تجویز بی‌رویه و غیر مجاز آنتی‌بیوتیک ها احتمالا دلیل اصلی برای بروز مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی می‌باشد. از آنجا که برخی جدایه‌ها مقاومت بالایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های به کار رفته برای درمان عفونت‌های انسانی داشتند، می‌توان به طور غیرمستقیم نتیجه گرفت که این جدایه‌ها از کارکنان آلوده مراکز فروش و فرآوری غذاهای دریایی سرچشمه گرفته‌اند. هرچند تایید این ادعا نیاز به مطالعات بیشتری دارد. شیوع بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، تتراسایکلین، اریترومایسین، سفازولین، تری متوپریم-سولفامتوکسازول و کلیندامایسین در مطالعات انجام پذیرفته در کشور های سوئِیس (Boss et al.,

2016)، ترکیه (Sanlibaba et al., 2018)، آفریقا (Olawale et al., 2015) و کره جنوبی (Kim et al., 2021)، گزارش شده است. کریمیان و همکاران (۲۰۱۸) شیوع ۵۰ تا ۷۰ درصدی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه-های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از گوشت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفالوسپورین، پنی‌سیلین و ماکرولید ها را گزارش نمودند (Karimian et al., 2018). بادول و همکاران (2021) نشان دادند که میزان مقاومت سویه های *انتروکوکوس فکالیس* در برابر سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، استرپتومایسین، تیکوپلانین، کینوپریستین-دالفوپریستین، نیتروفورانتوئین، سولفاماتوکسازول-تری متوپریم، اریترومایسین، تتراسایکلین، کلرامفنیکل و لووفلوکسازین به ترتیب ۹/۳، ۱۵/۱، ۶۹/۸، ۰، ۳/۱، ۷۷/۸، ۷۱/۶، ۷۹/۶، ۲۵/۳ و ۴/۴ درصد بود (Badul et al., 2021). همچنین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه‌های غذایی در برزیل (Riboldi et al., 2009) نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۱۱/۱ درصد)، ونکومایسین (۳/۷ درصد)، اریترومایسین (۱۱/۱ درصد)، تتراسایکلین (۳۳/۳ درصد)، سیپروفلوکساسین (۷/۴ درصد)، کلرامفنیکل (۷/۴ درصد)، جنتامایسین (۲۲/۲ درصد) و لینکومایسین (۵۱/۹ درصد) بیشتر از سایر آنتی‌بیوتیک ها بود (Camargo et al., 2014).

نتیجه گیری کلی

مطالعه حاضر نشان داد که نمونه‌های ماهی و میگو می-توانند به عنوان منابع احتمالی *انتروکوکوس فکالیس* مقاوم به آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شوند. در این ارتباط، آلودگی باکتری در نمونه های میگو بیشتر از ماهی بود. جدایه‌های *انتروکوکوس فکالیس* مقاومت قابل توجهی نسبت به آنتی-بیوتیک‌های رایج استفاده شده در ایران داشتند. بنابراین به نظر می‌رسد که در شرایط فعلی در ایران مطالعات مدون بیشتری در زمینه خصوصیات مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از مواد غذایی، خصوصا ماهی و میگو، انجام پذیرد تا فاکتورهای اپیدمیولوژیکی دخیل در آن به شکل موثری شناسایی شود.

منابع

1. Hu X.F and Chan H.M. 2015. Seafood Consumption and Its Contribution to Nutrients Intake among Canadians in 2004 and 2015. Nutrients. 13: 77.
2. Sheng L and Wang L. 2021. The microbial safety of fish and fish products: Recent advances in understanding its significance, contamination sources, and control strategies. Compre Rev Food Sci Food Safet. 20: 738-786.
3. Orababa O.Q., Soriwei J.D., Akinsuyi S.O., Essiet U.U and Solesi O.M. 2021. A systematic review and meta-analysis on the prevalence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) among Nigerians. Porto Biomed J. 6: e125.
4. Castillo-Rojas G., Mazari-Hiríart M., Ponce de León S., Amieva-Fernández R.I., Agis-Juárez R.A., Huebner J and López-Vidal Y. 2013. Comparison of Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis strains isolated from water and clinical samples: antimicrobial susceptibility and genetic relationships. PLoS One. 8: e59491.
5. Ramos S., Silva V., Dapkevicius M.D., Igrejas G and Poeta P. 2020. Enterococci, from harmless bacteria to a pathogen. Microorganisms. 8: 1118.
6. Jacobson R.A., Wienholts K., Williamson A.J., Gaines S., Hyoju S., Van Goor H., Zaborin A., Shogan B.D., Zaborina O and Alverdy J.C. 2020. Enterococcus faecalis exploits the human fibrinolytic system to drive excess collagenolysis: implications in gut healing and identification of druggable targets. Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol. 318: G1-9.
7. Fang SB. 2020. Enterococci and food safety–Are all probiotics beneficial?. Pediatr Neonatol. 61: 359-360.
8. Anderson A.C., Jonas D., Huber I., Karygianni L., Wölber J., Hellwig E., Arweiler N., Vach K., Wittmer A and Al-Ahmad A. 2016. Enterococcus faecalis from food, clinical specimens, and oral sites: prevalence of

virulence factors in association with biofilm formation. Front Microbiol. 6: 1534.
9. Sirichoat A., Flórez A.B., Vázquez L., Buppasiri P., Panya M., Lulitanond V and Mayo B. 2020. Antibiotic Resistance-Susceptibility Profiles of Enterococcus faecalis and Streptococcus spp. From the Human Vagina, and Genome Analysis of the Genetic Basis of Intrinsic and Acquired Resistances. Front Microbiol. 11: 1438.
10. Sanlibaba P., Tezel B.U and Senturk E. 2018. Antimicrobial resistance of Enterococcus species isolated from chicken in Turkey. Korean J Food Sci Anim Resour. 38: 391.
11. Shiadeh S.M., Pormohammad A., Hashemi A and Lak P. 2019. Global prevalence of antibiotic resistance in blood-isolated Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium: a systematic review and meta-analysis. Infect Drug Resist. 12: 2713.
12. Asadollahi P., Razavi S.H., Asadollahi K., Pourshafie M.R and Talebi M. 2018. Rise of antibiotic resistance in clinical enterococcal isolates during 2001–2016 in Iran: a review. New Microb New Infect. 26: 92-99.
13. Osek J. 2015. Antimicrobial resistance of Enterococcus faecalis isolated from meat. Bull Vet Inst Pulawy. 59: 229-233.
14. CLSI. 2018. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals, 4th edn. CSLI document VET08. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
15. Talebi M., Sadeghi J., Rahimi F and Pourshafie M.R. 2015. Isolation and biochemical fingerprinting of vancomycin-resistant Enterococcus faecium from meat, chicken and cheese. Jundishapur J Microbiol. 8: e15815.
16. Ben Said L., Klibi N., Dziri R., Borgo F., Boudabous A., Ben Slama K and Torres C. 2016. Prevalence, antimicrobial resistance and genetic lineages of Enterococcus spp. from vegetable food, soil and irrigation water in farm environments in Tunisia. J Sci Food Agr. 96: 1627-1633.
17. Camargo C.H., Bruder-Nascimento A., Lee S.H., Fernandes Júnior A., Kaneno R and Rall V.L. 2014. Prevalence and phenotypic characterization of Enterococcus spp. isolated from food in Brazil. Braz J Microbiol. 45: 111-115.
18. Tyson G.H., Nyirabahizi E., Crarey E., Kabera C., Lam C., Rice-Trujillo C., McDermott P.F and Tate H. 2018. Prevalence and antimicrobial resistance of enterococci isolated from retail meats in the United States, 2002 to 2014. Appl Environ Microbiol. 84: e01902-e01917.
19. 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 Contr. 114: 106958.
20. Araújo A.J., Grassotti T.T and Frazzon A.P. 2021. Characterization of Enterococcus spp. isolated from a fish farming environment in southern Brazil. Braz J Biol. 81: 954-961.
21. Igbinosa E.O and Beshiru A. 2019. Antimicrobial resistance, virulence determinants, and biofilm formation of Enterococcus species from ready-to-eat seafood. Front Microbiol. 10: 728.
22. NNNShikongo-Nambabi M., Shoolongela A and Schneider M.B. 2012. Control of bacterial contamination during marine fish processing. J Biol Life Sci. 3: 2157-6076
23. Di Cesare A., Luna G.M., Vignaroli C., Pasquaroli S., Tota S., Paroncini P and Biavasco F. 2013. Aquaculture can promote the presence and spread of antibiotic-resistant Enterococci in marine sediments. PLoS One. 8: e62838.
24. do Vale Pereira G., Da Cunha D.G., Pedreira Mourino J.L., Rodiles A., Jaramillo-Torres A and Merrifield D.L. 2017. Characterization of microbiota in Arapaima gigas intestine and isolation of potential probiotic bacteria. J Appl Microbiol. 123: 1298-1311.
25. Novais C., Campos J., Freitas A.R., Barros M., Silveira E., Coque T.M., Antunes P and Peixe L. 2018. Water supply and feed as

Surveillance on Antimicrobial Resistance Profiles of Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis Isolated from Healthy Food Animals in South Korea, 2010 to 2019. Microorganisms. 9: 925.

30. Badul S., Abia A.L., Amoako D.G., Perrett K., Bester L.A and Essack S.Y. 2021. From the Farms to the Dining Table: The Distribution and Molecular Characteristics of Antibiotic-Resistant Enterococcus spp. in Intensive Pig Farming in South Africa. Microorganisms. 9: 882.

31. Riboldi G.P., Frazzon J., d'Azevedo P.A and Frazzon A.P. 2009. Antimicrobial resistance profile of Enterococcus spp isolated from food in Southern Brazil. Braz J Microbiol. 40: 125-128.

32. Karimian H., Tajbakhsh E and Rahimi E. 2018. Prevalence Of antibiotic resistance genes in Entrococcus faecalis isolated from meat in Shahrekord. J Food Microbiol. 5: 1-9.

sources of antimicrobial-resistant Enterococcus spp. in aquacultures of rainbow trout (Oncorhyncus mykiss), Portugal. Sci Total Environ. 625: 1102-1112.

26. 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. J Food Protect. 79: 1240-1246.

27. Sanlibaba P., Tezel B.U and Senturk E. 2018. Antimicrobial resistance of Enterococcus species isolated from chicken in Turkey. Korean J Food Sci Anim Resour. 38: 391.

28. Olawale A.K., Salako R.J., Olawale A.O and Famurewa O. 2015. Antibiotic-Resistant Enterococcus faecalis isolated from food canteens in Osun States, Nigeria. Microbiol Res J Int. 21: 196-206.

29. Kim M.H., Moon D.C., Kim S.J., Mechesso A.F., Song H.J., Kang H.Y., Choi J.H., Yoon S.S and Lim S.K. 2021. Nationwide

Occurrence and antibiotic resistance of *Enterococcus faecalis* strains isolated from fish and shrimp caught from the Persian Gulf

Noroozi N [1], Momtaz H[2*], Tajbakhsh E[2]

1. Department of Microbiology, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
2. Department of Microbiology, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
3. Department of Microbiology, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

[*]**Corresponding author**: *hamomtaz@yahoo.com, hamomtaz@iaushk.ac.ir*

Received: 28 August 2021 Accepted: 27 November 2021

Abstract

The present study was performed to evaluate the occurrence and pattern of antibiotic resistance of *Enterococcus faecalis* strains isolated from fish and shrimp samples caught from the Persian Gulf. A total of 240 seafood samples caught from the Persian Gulf, including 120 fish and 120 shrimp samples were collected from Bushehr province. The presence of *E. faecalis* was confirmed using microbial culture and biochemical tests. The pattern of antibiotic resistance of *E. faecalis* isolates was evaluated using Disc Diffusion Method. Fifty-four out of 240 (22.50%) samples were contaminated with *E. faecalis*. The contamination of *E. faecalis* in fish and shrimp samples were 30% and 15 percent, respectively. *E. faecalis* strains isolated from fish and shrimp samples had the highest resistance to gentamicin (100%), tetracycline (100%), erythromycin (100%), cefazolin (90.74%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (88.88%) antibiotics. Resistance to chloramphenicol was not observed in any of the isolates. The results of the study showed that fish and shrimp can be considered as possible sources of antibiotic-resistant *E. faecalis*. Therefore, complete cooking of seafood before consumption, observance of hygiene in fishing and sale centers and prescribing antibiotics according to the results of the disk diffusion test can prevent gastrointestinal infections caused by antibiotic-resistant strains of *E. faecalis*.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, Antibiotic resistance, Shrimp, Fish.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

Copyright © 2021 Shahrekord Branch, Islamic Azad University.