

**UNIVERSITETI I PRISHTINËS “HASAN PRISHTINA”**  
**FAKULTETI I BUJQËSISË DHE VETERINARISË**  
**DEPARTAMENTI TEKNOLOGJI USHQIMORE ME BIOTEKNOLOGJI**  
**PROGRAMI SHKENCA E USHQIMIT**



**PUNIMI I DIPLOMËS MASTER**

**Shfaqja dhe antibiotikorezistenca e *Escherichia coli* tek mishi i specieve të ndryshme, i tregtuar në Kosovë**

**Mentor:**

***Prof. Dr. Afrim Hamidi***

**Kandidatja:**

***Bsc. Elona Kajtazi***

**Prishtinë, shkurt 2022**



**UNIVERSITETI I PRISHTINËS “HASAN PRISHTINA”**  
**FAKULTETI I BUJQËSISË DHE VETERINARISË**  
**DEPARTAMENTI TEKNOLOGJI USHQIMORE ME BIOTEKNOLOGJI**  
**PROGRAMI SHKENCA E USHQIMIT**



**PUNIMI I DIPLOMËS MASTER**

**Shfaqja dhe antibiotikorezistenca e *Escherichia coli* tek mishi i specieve të ndryshme, i tregtuar në Kosovë**

**Mentor:**

***Prof. Dr. Afrim Hamidi***

**Kandidatja:**

***Bsc. Elona Kajtazi***

**Prishtinë, shkurt 2022**

## Deklaratë

Deklaroj se ky punim diplome përfaqëson punën time origjinale dhe nuk është dorëzuar apo paraqitur asnjëherë para ndonjë komisioni vlerësues. E gjithë literatura dhe burimet tjera që janë shfrytëzuar në këtë punim janë të listuar në referenca dhe janë plotësisht të cituara.

Elona Kajtazi

# PËRMBAJTJA

Abstrakti .....	i
LISTA E TABELAVE .....	ii
LISTA E FIGURAVE.....	iii
1. HYRJE.....	1
2. SHQYRTIMI I LITERATURËS.....	2
2.1. Karakteristikat e përgjithshme të <i>Escherichia coli</i> .....	2
2.2. Karakteristikat mikrobiologjike dhe të rritjes së <i>Escherichia coli</i> .....	3
2.3. <i>Escherichia coli</i> komensiale.....	5
2.4. <i>Escherichia coli</i> patogjene .....	6
2.4.1. <i>E. coli</i> Enterotoksigenike (ETEC) .....	8
2.4.2. <i>E. coli</i> Enteroinvazive (EIEC).....	9
2.4.3. <i>E. coli</i> Enteropatogjene (EPEC) .....	10
2.4.4. <i>E. coli</i> Enteroagregative (EAEC).....	11
2.4.5. <i>E. coli</i> difuzivisht ngjitës (Diffusely-adherent <i>E. coli</i> (DAEC)).....	12
2.4.6. <i>E. coli</i> Enterohemorragjike (EHEC).....	13
2.5. Hyrja e <i>Escherichia coli</i> në zinxhirin ushqimor .....	15
2.6. Incidenca e <i>Escherichia coli</i> në ushqim.....	17
2.6.1. <i>Escherichia coli</i> në mish të gjedhit.....	19
2.6.2. <i>Escherichia coli</i> në mish të pulës.....	20
2.7. Parandalimi i kontaminimit të ushqimit me <i>Escherichia coli</i> .....	21
2.8. Shpërthime ushqimore të shkaktuara nga <i>Escherichia coli</i> .....	22
2.8.1. Shpërthimi i <i>E. coli</i> enterohemoragjike (EHEC) O104: H4 në Gjermani .....	23
2.8.2. Shpërthimi ushqimor i shkaktuar nga <i>E. coli</i> enterotoksigenike (ETEC) serotipi O169: H41 në Japoni.....	23
2.9. Antibiotikorezistenca e <i>Escherichia coli</i> .....	24
2.9.1. Acidi Nalidiksik .....	27

2.9.2. Linezolidi .....	27
2.9.3 Vankomicina.....	28
2.9.4. Eritromicina .....	28
2.9.5. Tetraciklina .....	29
2.9.6. Gentamicina.....	29
2.9.7. Kloramfenikoli .....	30
2.9.8. Doksiciklina .....	30
2.9.9. Streptomicina .....	31
2.9.10. Nitrofurantoini .....	31
2.9.11. Penicilina.....	32
3. QËLLIMI I HULUMTIMIT.....	33
4. METODOLOGJIA E HULUMTIMIT.....	34
4.1. Izolimi i <i>Escherichia coli</i> .....	34
4.1.1 Procedura e Izolimit të <i>Escherichia coli</i> .....	38
4.1.2. Testet konfirmuese.....	41
4.2. Testimi i ndjeshmërisë antimikrobike.....	43
4.2.1. Metoda Kirby Bauer .....	44
5. REZULTATET .....	50
5.1. Rezultatet e shfaqjes së <i>Escherichia coli</i> .....	50
5.2. Rezultatet e ndjeshmërisë së izolateve të <i>Escherichia coli</i> ndaj antibiotikëve (Antibiotikorezistenca) .....	51
6. DISKUTIMET.....	56
7. PËRFUNDIMET .....	59
8. REFERENCAT .....	60

## Abstrakti

Mishi është burim i rëndësishëm i ushqimit që mund të sigurojë një sasi të konsiderueshme proteinash të nevojshme për zhvillimin njerëzor. Shfaqja e baktereve që janë rezistente ndaj antimikrobikëve në mish përbën rrezik për shëndetin publik. *Escherichia coli* (*E. coli*) janë bakterie në formë shkopi, fakultative, anaerobe Gram-negative me shumë tipare. Brenda popullatave bakteriale rezistente, ato luajnë një rol të rëndësishëm ekologjik dhe mund të përdoren si bioindikator i rezistencës antimikrobike. Ky studim vlerësoi shfaqjen dhe rezistencën antimikrobike të *E. coli* të izoluar nga mish i papërpunuar (i freskët), përkatësisht nga mish i bardhë i pulës, mushkrittë dhe zemra e pulës dhe mish i grirë i gjedhit, të tregtuara në Kosovë. *E. coli* u izolua në bazë të National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS), USA. Hulumtimi u realizua gjatë muajve qershor – shtator të vitit 2021. Çdo muaj janë tesuar 8 mostra, në total 32 mostra. Ndjeshmëria antimikrobike (antibiotikorezistenca) u përcaktua me testin e ndjeshmërisë së difuzionit të diskut Kirby-Bauer. Nga 32 mostra të mishit të ekzaminuara, prevalenca më e lartë e *E. coli* ishte tek mish i grirë i gjedhit (100%), pasuar nga mushkrittë dhe zemra e pulës (83.33%) dhe mish i bardhë i pulës (72.72%). Nga numri i përgjithshëm i izolateve të testuara (26) ndaj 11 antibiotikëve 46.53% kanë rezultuar rezistente (R), kryesisht në penicillin, linezolid, vankomicinë dhe eritromicinë, 44.48% kanë qenë të ndjeshme kryesisht në kloramfenikol, gentamicinë, acid nalidiksik, tetraciklinë, nitrofurantion dhe doksociklinë dhe 9.38% dhe kanë rezultuar të ndërmjetme (I) kryesisht në acid nalidiksik, streptomycinë dhe nitrofurantoin. Niveli i lartë i rezistencës dhe rezistenca ndaj shumë barnave nënkupton që këta antibiotikë janë joefektiv, u shtojnë kosto të panevojshme fermerëve dhe sigurisht, lehtësojnë shfaqjen dhe përhapjen e rezistencës.

**Fjalët kyqe:** *Escherichia coli*, rezistenca antimikrobike, mish i pulës, mish i grirë i gjedhit.

## LISTA E TABELAVE

Tabla 1. Përbërja kimike dhe vlera e pH - së së Ujit pepton bufer .....	35
Tabla 2. Përbërja kimike dhe vlera e pH-së së MacConkey broth.....	36
Tabla 3. Përbërja kimike dhe vlera e pH-së së MacConkey agar .....	37
Tabla 4. Përbërja kimike dhe vlera e pH-së së Mueller-Hinton agar.....	45
Tabla 5. Rezultatet e shfaqjes së <i>E. coli</i> në mostrat e analizuara.....	50
Tabla 6. Rezultatet e ndjeshmërisë së izolateve të <i>E. coli</i> të testuara ndaj antibiotikëve .....	52
Tabla 7. Rezultatet e ndjeshmërisë së izolateve të <i>E. coli</i> të testuara ndaj antibiotikëve, të shprehura në përqindje për mostrat të ndara në dy grupe në bazë të origjinës dhe për të gjitha mostrat.....	53



## LISTA E FIGURAVE

Figura 1. Uji pepton bufer gjatë përgatitjes .....	35
Figura 2. MacConkey broth gjatë përgatitjes.....	36
Figura 3. MacConkey agar në ambalazhë, dhe MacConkey agar në pjatë Petri, gati për përdorim .....	37
Figura 4. 50g mostër + 250 ml ujë pepton bufer në qese Stomacher .....	38
Figura 5. Mostra e homogjenizuar në Stomacher .....	39
Figura 6. 50 ml nga përzierja mostër + BPW pasi i është shtuar 50 ml MAC broth (mostra e gatshme për inkubim) .....	39
Figura 7. Shtirja e mostrës me anë nga MAC broth në MAC agar.....	40
Figura 8. Kolonitë e <i>E. coli</i> në MAC agar .....	40
Figura 9. Vrojtimi i <i>E. coli</i> në mikroskop.....	41
Figura 10. Testi i oksidazës .....	42
Figura 11. Përgatitja e përzierjes ujë i destiluar + glicerol (përzierja në vortex).....	43
Figura 12. Vendosja e kolonisë në kriotub .....	43
Figura 13. Mueller-Hinton agar në ambalazhë, dhe Mueller-Hinton agar në pjatë Petri, gati për përdorim.....	44
Figura 14. Disqet e antibiotikëve të përdorur .....	46
Figura 15. Vendosja e kolonive në epruvete me 4 ml ujë pepton bufer .....	46
Figura 16. Shtirja e 0.1 ml nga BPW e inokuluar me <i>E.coli</i> , me shkop Drigalski në MH agar..	47
Figura 17. Vendosja e disqeve të antibiotikëve në MH agar .....	47
Figura 18. Mostrat në inkubator.....	48
Figura 19. Zona e inhibimit .....	48
Figura 20. Matja e zonës së inhibimit.....	49
Figura 21. Ndjeshmëria e përgjithshme e izolateve të <i>E. coli</i> ndaj të gjithë antibiotikëve, shprehur në përqindje.....	54
Figura 22. Ndjeshmëria e përgjithshme e izolateve të <i>E. coli</i> ndaj antibiotikëve, e izoluar nga mishi i grirë i gjedhit, mishi i bardhë i pulës dhe mushkrittë dhe zemra e pulës.....	55

# 1. HYRJE

Termi mish zakonisht përshkruan të gjitha pjesët e kafshëve me gjak të ngrohtë të cilat janë të dedikuara për konsum nga njerëzit, që nënkupton mishin e kafshëve të mëdha të destinuara për therje, kafshëve për gjah dhe shpendëve të përshtatshme për konsum nga ana e njeriut. Hyrja gjithnjë e më e gjerë e njerëzve në botën e ujit bën që ky term praktikisht të përfshijë edhe organizma të tjerë të gjallë si peshqit dhe jovertebrorët. Përkufizimi i mishit nuk ka të bëjë vetëm me sistemin e muskujve që përmbajnë mish muskolor, por gjithashtu lidhet me kockat, disa organe të brendshme dhe pjesë të kafshëve që gjenden në to dhe mund të konsumohen nga njerëzit (Przybylski & Hopkins, 2016). Mishi është përpunuar dhe shndërruar në produkte të ndryshme që nga kohërat antike me disa objektiva: për të mundësuar ruajtjen e tij për periudha të gjata kohore, për përdorimin total të karkasës, për përmirësimin e shijes dhe shumëllojshmërisë. Produktet e mishit janë ushqime në të cilat mishi është përbërësi kryesor, i përzier me përbërës të tjerë si, yndyrë, ujë, kripë dhe përbërës të kriposjes, erëza, etj. (Cobos & Díaz, 2014).

Kontaminimi nga mikroorganizmat patogjene është një nga sfidat më të rëndësishme me të cilat përballen prodhuesit e produkteve të përpunuara të mishit. Prania e patogjenëve ushqimor në mish dhe në produktet e mishit mund të rezultojë në një sërë problemesh shëndetësore të njeriut si dhe humbje ekonomike për prodhuesit për shkak të largimit nga tregu (Sofos, 2008). *Escherichia coli* (*E. coli*) është bakterie Gram - negative, anaerobe fakultative nga familja Enterobacteriaceae që kolonizon traktin gastrointestinal të kafshëve me gjak të ngrohtë menjëherë pas lindjes dhe është kolonizues gjatë gjithë jetës së tyre (Martinez-Medina, 2021). Edhe pse *E. coli* mund të jetë banor i padëmshëm i traktit gastrointestinal, ajo gjithashtu ka aftësinë patogjene për të shkaktuar sëmundje të konsiderueshme diarreale dhe ekstra - intestinale. Variantet patogjene të *E. coli* (patovaret ose patotipet) shkaktojnë shumë sëmundje dhe vdekshmëri në të gjithë botën (Croxen, et al., 2013).

Mishi është burim i rëndësishëm ushqimi që mund të sigurojë një sasi të konsiderueshme të proteinave për zhvillimin njerëzor. Shfaqja e baktereve që janë rezistente ndaj antibiotikëve (antimikrobikëve) në mish paraqet rrezik për shëndetin publik. Antibiotikët janë agjentë që përdoren për të kufizuar rritjen e mikroorganizmave ose përdoren për t'i vrarë ata. Rezistenca antimikrobike ndodh kur bakteret u rezistojnë antibiotikëve që kanë për qëllim t'i shkatërrojnë ato (Adzitey, Huda, & Shariff, 2021). Antibiotikët shpëtojnë jetë, por sa herë që përdoren, ata mund

të kontribuojnë në zhvillimin dhe përhapjen e rezistencës ndaj antibiotikëve. Rezistenca ndaj antibiotikëve përhapet te bakteret përmes njerëzve, kafshëve dhe mjedisit. Përmirësimi i përdorimit të antibiotikëve, duke përfshirë reduktimin e përdorimit të panevojshëm, mund të ndihmojë në ndalimin e përhapjes së rezistencës (CDC, 2021).

Në këtë punim do të analizohet *E. coli* në disa aspekte. Fillimisht do të shqyrtohet literaturë për *E. coli* si bakterie komensale, patogjene dhe shtamet patogjene më të rëndësishme të *E. coli*, gjithashtu për incidencën e saj në zinxhirin ushqimor në përgjithësi dhe në disa produkte të mishit në veçanti. Në këtë hulumtim do të shtjellohet edhe antibiotikorezistenca e *E. coli* dhe rëndësia e saj. Pastaj do të analizohet në laborator shfaqja e *E. coli* në disa lloje të mishit të tregtuara në vend, dhe në fund do të matet rezistenca e këtyre izolateve ndaj disa llojeve të antibiotikëve.

## 2. SHQYRTIMI I LITERATURËS

### 2.1. Karakteristikat e përgjithshme të *Escherichia coli*

*Escherichia coli* (*E. coli*) është një bakter, organizëm njëqelizor që është shumë i vogël për tu parë me sy të lirë dhe nganjëherë quhet mikroorganizëm ose mikrob. *E. coli* është shkurtësë e emrit të plotë shkencor të organizmit *Escherichia coli*. *E. coli* mori emrin e parë, *Escherichia*, nga pediatri gjerman Theodor Escherich, i cili e zbuloi atë. Emri i dytë, *coli*, do të thotë "nga zorra e trashë" ("from the colon"), e cila është habitat i natyror i organizmit (Ingerson-Mahar & Reid, 2011). Theodor Escherich së pari raportoi izolimin dhe karakterizimin e bakterieve në formë të shkopinjëve të shkurtër të hollë nga jashtëqitja e foshnjave, të cilën ai e quajti *Bacterium coli commune*, në botimin e tij në vitin 1885. Edhe pse organizmi u përshkrua më vonë me sinonime dhe përsëritje të shumta nga studiues të tjerë, emri *Escherichia coli* nuk u njoh plotësisht deri në vitin 1954. Mbi 125 vjet më vonë, *E. coli* njihet si komensal i padëmshëm i traktit gastrointestinal në kafshët me gjak të ngrohtë (Croxen, et al., 2013).

*E. coli* zakonisht kolonizon traktin gastrointestinal të foshnjave njerëzore brenda pak orësh pas lindjes. *E. coli* dhe nikoqiri i saj njerëzor mund të bashkëjetojnë në shëndet të mirë dhe me përfitim reciprok për dekada të tëra (Kaper, Nataro, Mobley, 2004). Nikoqirët i sigurojnë bakterit furnizim të vazhdueshëm me lëndë ushqyese dhe mbrojtje kundër streseve mjedisore, ku natyra komensale e *E. coli* mund të lehtësojë përhapjen e saj nëpër nikoqir (Murphy et al., 2021). Këto

shtame komensale të *E. coli* rrallë shkaktojnë sëmundje, përveç në nikoqirët me imunitet të dëmtuar ose kur janë thyer barrierat normale gastrointestinale. Habitati i *E. coli* komensale është shtresa e mukozës së zorrës së trashë të gjitarëve. Kjo bakterie është konkurrent shumë i suksesshëm në këtë vend të mbushur me mikroorganizma, që përmban anaerobet fakultative më të bollshme të mikroflorës së zorrëve të njeriut (Kaper et al., 2004). Shtamet e *E. coli* përbëjnë rreth 1 % të popullsisë normale mikrobike të zorrëve. Për shkak të përhapjes së lartë në zorrë, *E. coli* përdoret si treguesi i preferuar për të zbuluar dhe matur ndotjen fekale në vlerësimin e sigurisë së ushqimit dhe ujit (FAO, 2011). Megjithë sasinë e madhe të literaturës mbi gjenetikën dhe fiziologjinë e kësaj specie, mekanizmat sipas të cilave *E. coli* siguron këtë simbiozë të mbarë në zorrën e trashë janë të karakterizuara dobët. Një hipotezë interesante sugjeron që *E. coli* mund të shfrytëzojë aftësinë e saj për të përdorur glukonatin në zorrën e trashë në mënyrë më efektive sesa speciet e tjera rezidente, duke e lejuar kështu që të zërë një vend metabolik shumë specifik (Kaper et al., 2004).

Megjithatë, ekziston një anë alternative e *E. coli* e siguruar përmes fitimit dhe humbjes së gjeneve që e mundëson atë të bëhet një patogjen shumë i larmishëm dhe i përshtatur. *E. coli* patogjene mund të shkaktojë një gamë të gjerë sëmundjesh njerëzore që shtrihen nga trakti gastrointestinal në vendet ekstraintestinale të tilla si trakti urinar, qarkullimi i gjakut dhe sistemi nervor qendror (Croxen, et al., 2013). Disa shtame të *E. coli* janë të afta të shkaktojnë sëmundje tek njerëzit. Me shqetësim të veçantë është shtami i njohur si *Escherichia coli* O157: H7, i cili mund të shkaktojë sëmundje të rënda. *E. coli* O157: H7 prodhon sasi të mëdha të një ose më shumë toksinave të fuqishme që shkaktojnë dëme të rënda në mukozën e zorrëve. Këto toksina (verotoksina, ose VT, dhe shiga toksina) janë të lidhura ngushtë ose identike me toksinën e prodhuar nga *Shigella dysenteriae*. Kafshët, të tilla si gjedhet, pulat, derrat dhe delet janë rezervuarë natyralë për *E. coli*. Megjithatë, *E. coli* gjithashtu rritet mirë jashtë trupit të kafshëve, për shembull, në pajisjet e papastrat të trajtimit të ushqimit. Kontaminimi i drejtpërdrejtë fekal i njerëzve ose kafshëve është gjithashtu shpesh burim i kësaj bakterie (The Hartford, 1998).

## **2.2. Karakteristikat mikrobiologjike dhe të rritjes së *Escherichia coli***

*Escherichia coli* (*E. coli*) është mikroorganizmi më i studiuar. Siç u përmend më lartë është banor i zakonshëm komensal i traktit gastrointestinal dhe mund të jetë një nga patogjenët më të rëndësishëm tek njerëzit (Sannes, Kuskowski, Owens, Gajewski, 2004). Është një nga 30 anëtarët

e familjes bakteriale të Enterobacteriaceae, është bakter koliform dhe një nga 6 llojet e specieve *Escherichia* (*E. adecaroxylate*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* dhe *E. vulneris*) (Ekici & Dümen, 2019). *E. coli* është anëtari më i rëndësishëm i familjes Enterobacteriaceae dhe ndoshta është organizmi më i kuptuar i kësaj familjeje (Patel et al., 2014).

*E. coli* është baktere mezofilike Gram - negative, oksidazë - negative që nuk formon spore, fakultative anaerobe, në formë shkopi e cila rritet në një gamë temperature prej 7 – 45 °C, temperatura optimale e rritjes së kësaj bakterie është 37 °C (Ekici & Dümen, 2019; & Croxen, et al., 2014), rritet në një gamë të pH - së midis 4.4 - 9, më mirë rriten mirë në terren me pH neutral (7) dhe në një aktivitet uji  $a_w > 0.95$ . *E. coli* tregon rezultat pozitiv në testin e fermentimit dhe reagimin e katalazës. Vlera e saj D në 60 °C është 0.1 min (Patel et al., 2014). Qelizat e *E. coli* janë tipike 1.1 – 1.5 µm të gjera dhe 2 – 6 µm të gjata dhe gjenden si shkopinjë të vetëm të drejtë. Ato mund të jenë të lëvizshme ose të pa lëvizshme, dhe kur lëvizin prodhojnë pjesë anësore në vend të flagjelave polare. Përveç flagjelës, shumë shtame prodhojnë fimbriae ose pili, të cilat janë struktura proteinike (shtojca ose fibra) që shtrihen jashtë nga sipërfaqja bakteriale dhe luajnë rol në bashkimin e qelizave me qelizat e tjera ose me indet nikoqire (Desmarchelier & Fegan, 2002).

Karakteristikat e rritjes dhe mbijetesës së *E. coli* janë shumë të ngjashme me ato të organizmave të tjerë enterikë. Ajo i mbijeton ngrirjes në - 20 °C dhe mund t'i mbijetojë ruajtjes së ftohtë, duke qenë në gjendje të rritet në një temperaturë minimale prej 6.5 °C. *E. coli* O157: H7 nuk ka rezistencë të pazakontë ndaj nxehtësisë dhe gjithashtu toleron nivele kripe të ngjashme me ato të patogjenëve të tjerë tipikë (Garcia, Heredia, & Wesle, 2009). Fiziologjikisht, *E. coli* është e gjithanshme dhe e përshtatur mirë me habitatet e saj karakteristike. Mund të rritet në mjedisë që përmbajnë glukozë si përbërës të vetëm organik. *E. coli* nuk ka kërkesa për faktorin e rritjes dhe metabolikisht mund të transformojë glukozën në të gjithë komponentët makromolekulare që përbëjnë qelizën. Bakteria mund të rritet në prani ose mungesë të oksigjenit. Në kushte anaerobe, ajo rritet me anë të fermentimit duke prodhuar "acide dhe gazra të përzier" karakteristik si produkte përfundimtare. Sidoqoftë, ajo mund të rritet gjithashtu me anë të frymëmarrjes anaerobe, pasi është në gjendje të përdorë NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub> ose fumarate si pranues përfundimtar të elektroneve për proceset e transportit të elektroneve në frymëmarrje. Pjesërisht, kjo e përshtatë *E. coli* me habitatet e saj të zorrëve (anaerobe) dhe jashtë zorrëve (aerobe ose anaerobe) (Sousa, 2006).

*E. coli* mund t'i përgjigjet sinjaleve mjedisore si kimikateve, pH-së, temperaturës, osmolaritetit dhe stimuluesve tjerë në një numër mënyrash të jashtëzakonshme duke pasur

parasysh se është organizëm njëqelizor. Për shembull, mund të ndiejë praninë ose mungesën e kimikateve dhe gazërave në mjedisin e saj dhe të notojë drejt ose larg tyre, ose mund të ndalojë së notuari dhe të rritë (zhvilloj) fimbria që e lidhin atë në mënyrë të veçantë me receptor qelizor ose sipërfaqësor. Në përgjigje të ndryshimit të temperaturës dhe osmolaritetit, ajo mund të ndryshojë diametrin e poreve të membranës së jashtme për të akomoduar molekula më të mëdha (ushqyese) ose për të përjashtuar substancat inhibituese. Me mekanizmat e saj komplekse për rregullimin e metabolizmit, bakterja mund të vëzhgojë përmbajtjen kimike të mjedisit para se të sintetizojë çdo enzimë të nevojshme për përdorimin e këtyre përbërjeve. Ajo nuk prodhon kot enzima për degradimin e burimeve të karbonit nëse ato nuk janë të disponueshme, dhe nuk prodhon enzima për sintezën e metabolitëve nëse ato janë të disponueshme si lëndë ushqyese në mjedis (Sousa, 2006).

### **2.3. *Escherichia coli* komensiale**

Zorra e trashë e njeriut përmban një densitet mikrobial që i afrohet  $10^{12}$  organizma për gram feces, duke përfaqësuar një ekosistem me ekuilibër të përkryer. Mikrobiota komensiale, që rrjedh nga latinishtja 'com mensa' që do të thotë 'të ndash një tryezë', përbëhet nga më shumë se 400 lloje që jetojnë në harmoni të përsosur me zorrën e njeriut (Sousa, 2006). Meqenëse *E. coli* është bakterie anaerobe fakultative dhe ndër kolonizatorët e parë të zorrëve, mund të rritet në prani të oksigjenit, i cili është toksik për shumë mikroorganizma tjerë në mikrobiomën e zorrëve tona. *E. coli* konsumon oksigjen nga zorrët dhe ndihmon në krijimin e një mjedisi anaerob mikpritës për mikroorganizmat tjerë dhe kështu mundëson kolonizimin e mëtejshëm të zorrëve nga bakteriet anaerobe (Ingerson-Mahar & Reid, 2011; & Erjavec, 2019). Pas kolonizimit të zorrëve nga *E. coli* zakonisht, nikoqiri dhe *E. coli* bashkëjetojnë në përfitim reciprok për dekada të tëra. *E. coli* merr "ushqim dhe strehim", dhe nikoqiri përfiton për shkak të prodhimit të vitaminës K nga *E. coli* dhe të ashtuquajturës rezistencë ndaj kolonizimit. Rezistenca e kolonizimit është fenomeni i mbrojtjes kundër kolonizimit nga bakteret patogjene, duke përfshirë edhe *E. coli* patogjene.

Habitati i *E. coli* komensiale është shtresa e mukozës së zorrës së trashë. Mesatarisht pesë lloje të ndryshme komensiale të *E. coli* kolonizojnë një nikoqir njerëzor në çdo kohë të dhënë. Pasi që nikoqiri dhe *E. coli* përfitojnë nga lidhja e tyre, këto *E. coli* mund të përcaktohen gjithashtu si *E. coli* reciproke (Erjavec, 2019). Por *E. coli* është më shumë se vetëm një banor i padëmshëm

i zorrëve; mund të jetë gjithashtu një patogjen shumë i gjithanshëm dhe shpesh vdekjeprurës (Sousa, 2006).

## 2.4. *Escherichia coli* patogjene

Patogjeni bakterial është mikroorganizëm shumë i përshtatur, i cili ka aftësinë të shkaktojë sëmundje. Patogjenët bakterialë kanë evoluar strategji të shumta për të shfrytëzuar proceset qelizore të nikoqirit të tyre në mënyrë që ata të mund të mbijetojnë dhe të zhvillohen (Sousa, 2006). *E. coli* patogjene dallohen nga *E. coli* të tjera për shkak të aftësisë së tyre për të shkaktuar sëmundje serioze si rezultat i elementeve të tyre gjenetike për prodhimin e toksinave, ngjijtes (adhesion) dhe pushtimint të qelizave nikoqire, ndërhyrjen në metabolizmin e qelizave dhe shkatërrimin e indeve (FAO, 2011). Aftësia e disa shtameve të *E. coli* për të shkaktuar sëmundje është njohur në fillim të shekullit XX, dhe diarreja e foshnjave është një nga sëmundjet e para të njohura që shkaktohen nga *E. coli* (Batt, 2014). Shtamet patogjene të *E. coli* përdorin një skemë patogjeneze me shumë hapa që është e ngjashme me atë të përdorur nga patogjenët e tjerë të mukozës, e cila konsiston në kolonizimin e një zone mukozale, shmangie të mbrojtjes së nikoqirit, shumëfishim dhe dëmtim të nikoqirit (Rivas, Mellor, Gobius, & Fegan, 2015). Shkathësia e shtameve patogjene të *E. coli* varet nga përbërja e tyre gjenetike si dhe nga prania e të ashtuquajturave gjene virulente. Posedimi i gjeneve të tilla i dallon bakteret patogjene nga ato jopatogjene. *E. coli* patogjene grupohet në lista të patotipeve bazuar në

- **mekanizmat e patogjenitetit** (p.sh., modelet e lidhjes dhe pushtimit të qelizave nikoqire),
- **vetitë e virulencës** (p.sh. prodhimi i toksinave, prania e plazmideve të virulencës, mekanizmat e lidhjes), dhe
- **sindromat klinike** (Kaper et al., 2004).

Nomenklatura për *E. coli* patogjene është komplekse dhe të kuptuarit vështirësohet nga numri relativisht i madh i patotipeve të *E. coli* të përshkruara, ngjashmëria në emrat e dhënë për patotipet e ndryshme, mospërputhjet në përdorim në literaturë dhe shfaqja e patotipeve të reja.

Është e rëndësishme të theksohet se disa grupe dhe shtame të *E. coli* mund të ndajnë tipare të ngjashme virulence dhe ka shumë mbivendosje në mekanizmat e patogjenezës për patotipe të ndryshme. Për shembull, si EPEC ashtu edhe EHEC prodhojnë intimin, një proteinë që lejon patogjenin të ngjitet në qelizat e zorrëve. Përveç kësaj, shumë nga gjenet e virulencës të bartura

nga këto grupe patogjene të *E. colit* përmbahen brenda elementeve gjenetike të lëvizshme dhe mund të transferohen midis shtameve për të krijuar shtame "të shfaqura". Ky lloj transferimi është demonstruar në shpërthimin e vitit 2011 në Gjermani që u shkaktua nga *E. coli* O104: H4 (Rivas et al., 2015).

*E. coli* është një specie e rëndësishme mjekësore, pasi është e përfshirë në shumë lloje të ndryshme infeksionesh. Ekzistojnë dy grupe kryesore të *E. coli* patogjene:

- ***E. coli* patogjene ekstraintestinale (ExPEC)** – ky grup përbëhet nga shtame që shkaktojnë infeksione jashtë traktit të zorrëve, kryesisht infeksione në traktin urinar, por edhe sepsis, meningjit dhe infeksione të plagëve. Këto shtame janë gjenetikisht të larmishme dhe janë të ngjashme me *E. coli* jopatogjene që banon në traktin intestinal.
- ***E. coli* patogjene intestinale (IPEC)**, për dallim nga shtamet komensiale dhe ExPEC, *E. coli* diareoagjenike (DEC) shkakton infeksione të zorrëve dhe strehon adezina specifike sipërfaqësore dhe faktorë të tjerë virulente, dhe ato mund të klasifikohen në shtatë patotipe të përcaktuara mirë: *E. coli* enterohemorragjike (EAEC), *E. coli* enteropatogjene (EPEC), *E. coli* enterotoksigenike (ETEC), *E. coli* enteroagregative (EHEC), *E. coli* enteroinvazive (EIEC), *E. coli* difuzivisht ngjites (DAEC) dhe *E. coli* nekrotoksike (NTEC). Kohët e fundit, një patotip i ri i quajtur *E. coli* ngjites-invaziv (adherent-invasiv) (AIEC) është propozuar se është lidhur me sëmundje inflamatore të zorrëve, veçanërisht sëmundjen e Crohn (Martinez-Medina, 2021).

*E. coli* karakterizohet gjithashtu nga një skemë serotipizimi bazuar në tri antigjene themelore, O (lipopolisakaridi), K (kapsular) dhe H (flagjellar), të cilët të gjithë mund të ndahen në antigjene të pjesshme. Megjithëse ekzistojnë midis 50,000 dhe 100,000 ose më shumë serotipe *E. coli*, numri i serotipeve patogjene në infeksionet gastrointestinale është i kufizuar. Secila nga kategoritë kryesore të *E. coli* diarregjenike mund të grupohet përgjithësisht në bazë të serotipeve O: H, të cilat janë provuar të jenë të dobishme për të kuptuar patogjenezën dhe epidemiologjinë e infeksioneve enterike *E. coli* (Rivas et al., 2015). Më poshtë përshkruhen disa prej kategorive kryesore në të cilat mund të ndahen shtamet patogjene të *E. coli* dhe karakteristikat që i përcaktojnë ato.



### 2.4.1. *E. coli* Enterotoksigenike (ETEC)

*E. coli* enterotoksigenike u përshkrua për herë të parë në vitin 1967, menjëherë pas zbulimit të toksinës së kolerës (CT). Ndër grupet e ndryshme të virulencës së *E. colit*, ETEC është kryesisht përgjegjëse për shkaktimin e diarresë tek njerëzit (Dubreuil, 2014). ETEC shkakton diarre ujore, e cila mund të shkojë nga sëmundje të lehta, vetë-kufizuese deri në sëmundje të rënda spastrimi. Organizmi është shkaktar i rëndësishëm i diarresë së fëmijërisë në vendet në zhvillim dhe është shkaku kryesor i diarresë së udhëtarëve (Kaper et al., 2004). Përveç kësaj njerëzit që jetojnë në vendet në zhvillim shpesh është raportuar se e kanë këtë patotip në fecesin e tyre dhe është treguar se kanë zhvilluar imunitet ndaj këtij mikroorganizmi. ETEC është shkaku i vdekshmërisë tek fëmijët nën 5 vjeç, është mikroorganizmi më i vërejtur në diarrenë e fëmijërisë, dhe është përgjegjës për 30 - 60% të diarresë së udhëtarëve (Ekici & Dümen, 2019).

Në individë të shëndetshëm, lukthi, duodenumi dhe jejunumi në përgjithësi nuk përmbajnë baktere koliforme. Për të shkaktuar sëmundje, ETEC së pari ngjitet dhe kolonizon zorrën e hollë me anë të faktorëve kolonizuese (CF) që kanë natyrë proteinike dhe mund të jenë fimbriale ose afimbriale. CF - të janë të domosdoshme që ETEC të rezistojnë dhe të mos largohen nga peristaltizmi me rrjedhën normale të përmbajtjes fekale. Tek njerëzit, janë të njohura më shumë se 22 CF (Dubreuil, 2014). Përmes prodhimit të këtyre CF - ve fimbriale ose afimbriale, shtamet ETEC shkaktojnë hipersekretim të lëngjeve duke prodhuar enterotoksina që prishin homeostazën e lëngjeve dhe elektroliteve në qelizat epiteliale të zorrëve të holla, duke çuar në diarre ujore. Pa rehidratim, diarreja e moderuar ose e rëndë mund të çojë në dehidratim dhe vdekshmëri akute (Ekici & Dümen, 2019). Enterotoksinat ETEC i përkasin njërit prej dy grupeve:

1. Enterotoksinave të qëndrueshme ndaj nxehtësisë (STs) dhe
2. Enterotoksinave të paqëndrueshme ndaj nxehtësisë (LTs).

Shtamet ETEC mund të shprehin vetëm LT, vetëm ST, ose të dyja LT dhe ST (Kaper et al., 2004).

Infeksioni ETEC fitohet nga gëlltitja e ushqimit ose ujit të kontaminuar dhe rezervuari natyror i ETEC ka të ngjarë të jenë njerëzit. Doza infektive e ETEC për të rriturit vlerësohet të jetë  $10^8$  qeliza (Yang & Wang, 2014). Prandaj, transmetimi nga njeriu në njeri nuk ka gjasa të jetë shkaktar i sëmundjes. Infeksioni karakterizohet me diarre ujore dhe në varësi të personit rrjedha e tij mund të shkojë nga një rrjedhë normale në jashtëqitje të ngjashme me kolerën me shtimin e

simptomave të tilla si të vjella dhe temperaturë të lartë (Ekici & Dümen, 2019). ETEC gjithashtu mund të shkaktojë simptoma të sëmundjes klinikisht të padallueshme nga kolera që shkaktohet nga *Vibrio cholera*. ETEC mund të shkaktojë diarre ujore edhe tek kafshët e porsalindura dhe të reja shtëpiake, duke përfshirë viçat, qengjat dhe derrat; megjithatë, nuk infekton kafshët e rritura (Yang & Wang, 2014).

#### **2.4.2. *E. coli* Enteroinvazive (EIEC)**

Shtamet e EIEC fillimisht u njohën nga DuPont dhe bashkëpunëtorët e tij në vitin 1971 dhe karakterizohen nga aftësia e tyre për të nxitur hyrjen në qelizat epiteliale dhe përhapjen nga qeliza në qelizë (Yang & Wang, 2014). EIEC janë biokimikisht, gjenetikisht dhe patogjenikisht të lidhura ngushtë me *Shigella spp.* Studime të shumta kanë treguar se *Shigella* dhe *E. coli* janë taksonomikisht të padallueshëm në nivelin e specieve, por për shkak të rëndësisë klinike të *Shigellës*, një dallim nomenklature ruhet ende. Katër speciet *Shigella* që janë përgjegjëse për sëmundjet njerëzore, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei* dhe *S. boydii*, shkaktojnë shkallë të ndryshme dizenterie, e cila karakterizohet me ethe, ngërçe barku dhe diarre që përmban gjak dhe mukus. EIEC mund të shkaktojë kolinë invaziv inflamator dhe herë pas here dizenteri, por në shumicën e rasteve EIEC shkakton diarre ujore që nuk dallohet për shkak të infeksionit nga shtame tjera të *E. coli* (Kaper et al., 2004). Doza infektive për shumicën e specieve *Shigella* është brenda intervalit nga 200 deri në 5000 qeliza, ndërsa doza infektive për EIEC vlerësohet të jetë diku nga  $10^4$  -  $10^8$  qeliza. Megjithatë këta patogjenë posedojnë të njëjtin informacion gjenetik të invazionit, arsyeja e ndryshimit në doza infektive ende nuk është sqaruar plotësisht. Spekullohet se virulenca mund të varet nga forma e plazmidit të madh të virulencës (pINV) të strehuar nga speciet EIEC ose *Shigella* (Lampel, 2014).

Infeksionet e shkaktuara nga EIEC janë endemike në vendet më pak të zhvilluara dhe raportohen të jenë infeksione të vërejtura rrallë në vendet e zhvilluara (Ekici & Dümen, 2019). Simptomat dizenterike të shkaktuara nga EIEC zakonisht shfaqen brenda 12 - 72 orëve pas gëlltitjes së ushqimit ose ujit të kontaminuar. Rezervuari natyror për EIEC ka të ngjarë të jenë njerëzit e infektuar pasi asnjë kafshë nikoqire nuk është identifikuar (Batt, 2014). Ka dëshmi që tregojnë se EIEC transmetohet përmes ushqimeve të kontaminuara. Ashtu si në rastet e shigellozës, rastet e diarresë me shtame enteroinvazive mund të trajtohen duke përdorur antimikrobikë efektivë kundër izolateve të *Shigellës*. Në një studim të kryer për të hetuar efektet e përdorimit të

antibiotikëve, mostrat e jashtëqitjes u analizuan për të gjetur nëse ndikonte në gjetjet e patogjenit. Katër dhe pesëdhjetë e gjashtë turistë nga Finlanda u informuan të gjithë në lidhje me përdorimin e antibiotikëve gjatë udhëtimit dhe mostrat e jashtëqitjes u morën prej tyre para dhe pas udhëtimit. Kishte dallime midis udhëtarëve që vizituan vende të ndryshme më parë dhe atyre që nuk përdornin asnjë antibiotik përpara i përket gjetjeve të Enterobacteriaceae, si dhe disa probleme shëndetësore gjatë udhëtimit dhe gjetjeve patogjene në jashtëqitje (Ekici & Dümen, 2019).

### **2.4.3. *E. coli* Enteropatogjene (EPEC)**

EPEC është patotipi i parë i *E. coli* që u përshkrua (Kaper et al., 2004), dhe karakteristika e saj më e rëndësishme është ngjitja (Ekici & Dümen, 2019). Shpërthimet e mëdha të diarresë foshnjore në Mbretërinë e Bashkuar bënë që Bray, në vitin 1945, të përshkruajë një grup të shtameve të dallueshme serologjikisht të *E. coli* që u izoluan nga fëmijët me diarre, por nuk u izoluan nga fëmijët e shëndetshëm. Megjithëse shpërthimet e mëdha të diarresë foshnjore të shkaktuara nga EPEC kryesisht janë zhdukur nga vendet e industrializuara, EPEC mbetet një shkak i rëndësishëm i diarresë potencialisht fatale të foshnjave në vendet në zhvillim. Për dekada, mekanizmat me të cilët EPEC shkakton diarre kanë qenë të panjohura dhe ky patotip mund të identifikohet vetëm në bazë të serotipit O: H. Sidoqoftë, që nga viti 1979 janë bërë përparime të shumta në kuptimin e patogjenezës së diarresë të shkaktuar nga EPEC, aq sa EPEC tani është ndër shtamet më të kuptuara nga të gjitha *E. coli* patogjene (Kaper et al., 2004).

Histopatologjia karakteristike e zorrëve është e lidhur me infeksione të shkaktuara nga EPEC; e njohur si 'ngjitje dhe zhdukje' (A/E), bakteret lidhen ngushtë me qelizat epiteliale të zorrëve dhe shkaktojnë ndryshime të habitshme citoskeletale, duke përfshirë akumulimin e aktinës së polimerizuar direkt nën bakteret ngjitëse. Mikrovilët e zorrëve janë struktura që zhduken dhe janë të ngjashme me bazamentin, mbi të cilin bakteret ngjiten shpesh nga qeliza epiteliale (Kaper et al., 2004). Aftësia për të prodhuar leziona ngjitëse që më pas zhduken është një fenotip dallues për EPEC (Ekici & Dümen, 2019). Bakteret shkaktojnë përkeqësim të gjerë në mikrovilë duke u ngjitur fort në membranën e qelizave nikoqire. Kjo ngjitje në qelizë ndërmjetësohet nga një proteinë e membranës së jashtme e cila quhet intimin.

Për më tepër, në varësi të pranisë së faktorit adherues të *E. coli* (EAF), EPEC klasifikohet në shtame *tipike* (*tEPEC*) dhe *atipike* (*aEPEC*). Përveç kësaj, si faktor tjetër dallues, të gjitha shtameve EPEC u mungojnë gjenet që prodhojnë toksinën Shiga (stx). Ndër infeksionet me një

patogjen të vetëm, EPEC ka rezultatin e dytë më të lartë të ashpërsisë pas rotavirusit, i ndjekur nga ETEC. *E. coli* diarregjenike, veçanërisht EPEC, ETEC dhe EAEC janë gjetur se janë patogjenët kryesorë që lidhen me diarrenë kronike dhe komplikimet e saj zgjasin më shumë se 14 ditë në vendet në zhvillim. Për më tepër, në mesin e fëmijëve me diarre kronike në vendet në zhvillim, aEPEC është patogjeni më i zakonshëm i izoluar dhe është rasti më i zakonshëm klinik. Këto gjetje tregojnë se aEPEC mund të ketë një tendencë për të qenë natyrshëm më kronike sesa shtamet tjera të *E. coli* diarregjenike (Ekici & Dümen, 2019).

Klinikisht, sëmundja e shkaktuar nga EPEC karakterizohet nga të vjella, ethe dhe diarre ujore pa gjak. Fillimi i sëmundjes mund të jetë aq i shkurtër sa 4 orë pas gëlltitjes. Doza infektive për foshnjat në përgjithësi supozohet të jetë shumë e ulët; për të rriturit, vlerësohet të jetë  $10^8$  -  $10^{10}$  qeliza. Përveç njerëzve, EPEC gjithashtu infekton kafshë, përfshirë kafshët e fermave, qentë, macet dhe lepujt. (Yang & Wang, 2014). EPEC transmetohet nga personi në person, megjithatë; rrallë, dihet gjithashtu se përhapet përmes ushqimit dhe ujit të kontaminuar (Ekici & Dümen, 2019).

#### **2.4.4. *E. coli* Enteroagregative (EAEC).**

Shtamet EAEC fillimisht u njohën si shkaktar i diarresë në vitet 1980, dhe u identifikuan vetëm nga vetia e tyre e ngjitjes me qelizat HEp-2, e cila i diferencon ato nga të gjitha *E. coli* të tjera të njohura diarregjenike (Yang & Wang, 2014). Ky patotip është një enteropatogjen ushqimor i vërejtur në rastet e diarresë akute dhe të vazhdueshme tek fëmijët, pacientët me sistem imunitar të dëmtuar në vendet në zhvillim dhe njerëzit që udhëtojnë në rajone endemike. Çrregullimet e rritjes dhe çrregullimet kognitive tek fëmijët që jetojnë në vendet në zhvillim, rrjedhin nga infeksionet EAEC (Ekici & Dümen, 2019). Doza infektive e EAEC vlerësohet të jetë  $10^{10}$  organizma, dhe rezervuari natyror janë njerëzit. Klinikisht, simptomat janë diarre ujore, mukoide me pak ose aspak temperaturë (Yang & Wang, 2014). Forma e vazhdueshme e diarresë mund të zgjasë deri në 14 ditë (Batt, 2014).

Në patogjenezën e EAEC, hapi i parë është ngjitja e fortë në mukozën e zorrëve. Hapi i dytë çon në zhvillimin e enterotoksinave dhe citotoksinave dhe hapi i tretë dihet se karakterizohet me aftësinë për të shkaktuar inflamacion të mukozës. Shumë faktorë të ndryshëm të virulencës në lidhje me këta tre hapa janë përcaktuar, megjithatë, asnjëri prej tyre nuk është i pranishëm në të gjitha shtamet. Janë përcaktuar tri modele ngjitjeje në lidhje me EAEC. Përveç modelit të ngjitjes

së lokalizuar (LA) që u përcaktua së pari, ekziston gjithashtu një model i ngjitjes i përhapur (DA) dhe modeli i ngjitjes agregative (AA). Shtamet që korrespondojnë me modelin AA u përcaktuan më vonë si "*E. coli* enteroadherent – agregativ". Sidoqoftë, ky term më pas u zëvendësua me emrin aktual "Enterogregative *E. coli*". Fenotipi AA duhet të jetë i pranishëm në mënyrë që një shtam *E. coli* të klasifikohet në patotipin EAEC (Ekici & Dümen, 2019).

Pasiqë diarreja e udhëtarëve është një infeksion ushqimor dhe meqë EAEC është pas ETEC patogjeni i dytë më i zakonshëm i lidhur me diarrenë e udhëtarëve, nuk duhet të jetë e habitshme që EAEC gjendet edhe në ushqim (Brüssow, 2014). Zakonisht gjendet në ushqimet në Meksikë, përfshirë ëmbëlsirat dhe salcat, dhe vizitorët e këtij vendi dihet se janë më të ndjeshëm ndaj infeksioneve të EAEC gjatë qëndrimit të tyre sesa ETEC, ndaj të cilëve ata janë më të prekshëm. Arsyeja pas kësaj është aftësia e EAEC për të dëmtuar sistemin imunitar dhe për të shkaktuar infeksion kronik (Ekici & Dümen, 2019). Një studim dokumentoi patogjenët enterik në salcat e restoranteve të njohura në Guadalajara, Meksikë: 47 nga 71 salcat ishin të kontaminuara me *E. coli*. Titri mesatar ishte 1000 cfu për gram. Në 4 raste, ETEC u izolua dhe në 14 raste u identifikua EAEC. Asnjë patogjen *E. coli* nuk u identifikua në salcat meksikane nga restorante në Hjuston, Teksas (Brüssow, 2014).

EAEC është gjithashtu më rezistente ndaj antibiotikëve në krahasim me patogjenët e tjerë diarregjenikë. Infeksioni i vazhdueshëm dhe ndërprerja kronike në funksionet e zorrëve shkaktojnë kequshqyerje dhe rënie të zhvillimit fizik dhe mendor, veçanërisht tek fëmijët. Kequshqyerja, e cila vërehet për shkak të mungesës së mikronutrientëve, nxit infeksionin. Zhvillimi i infeksionit shkakton kequshqyerjen. I gjithë ky cikël rrit barrën e diarresë akute (Ekici & Dümen, 2019).

#### **2.4.5. *E. coli* difuzivisht ngjitës (Diffusely-adherent *E. coli* (DAEC))**

Shtamet e DAEC fillimisht u njohën në vitin 1984 nga Scaletsky dhe kolegët e tij për shkak të modelit të tyre unik të ngjitjes difuze, në të cilin bakteret mbulojnë në mënyrë uniforme të gjithë sipërfaqen e qelizave epiteliale (Yang & Wang, 2014). DAEC përcaktohen nga prania e një modeli karakteristik, të përhapur të ngjitjes në monoshtrësat e qelizave HEp-2 (Kaper et al., 2004). Serotipet DAEC shkaktojnë diarre kronike tek fëmijët e moshës 1 deri në 5 vjeç. Ato shkaktojnë degradim në epitelin e zorrëve duke u lidhur me proteinat që përshpejtojnë degradimin. Diarreja e lehtë e zbrazët e leukociteve fekale është tregues i infeksionit. Në Francë, shtamet e DAEC u

zbuluan se ishin të përhapura në rastet e diarresë të vërejtura në pacientët e shtruar në një spital pa enteropatogjen tjetër. Kjo situatë tregon se shtamet DAEC mund të jenë patogjen i rëndësishëm diarregjenik në vendet e zhvilluara. Studimet e fundit tregojnë se disa shtame DAEC përmbajnë faktorë virulencë të pranishëm në shtamet uropatogjene të *E. coli* (UPEC) (Ekici & Dümen, 2019).

#### **2.4.6. *E. coli* Enterohemorragjike (EHEC).**

EHEC e njohur për herë të parë si shkaktar i sëmundjes njerëzore në vitin 1982, EHEC shkaktonte diarre të përgjakshme (kollit hemorragjik), diarre jo të përgjakshme dhe sindromë hemolitike uremike (HUS). Rezervuari kryesor i EHEC është trakti i zorrëve të gjedhit dhe shpërthimet fillestare u shoqëruan me konsumimin e hamburgerëve të pa gatuar. Më pas, një shumëllojshmëri e gjerë e artikujve ushqimorë janë shoqëruar me sëmundje, duke përfshirë salçiqet, qumështin e papasterizuar, marulet, pjepërin, lëngun e mollës dhe gjethet rrepkës së kuqe - këto të fundit ishin përgjegjëse për një shpërthim të 8,000 rasteve në Japoni. E lehtësuar nga doza jashtëzakonisht e ulët infektive e kërkuar për infeksion (vlerësohet të jetë <100 qeliza), EHEC ka shkaktuar gjithashtu shpërthime të shumta të lidhura me ujin e pijshëm, rekreativ dhe komunal, transmetimin nga personi në person dhe vizitat e kafshëve të kopshtit zoologjik dhe fermave. Një raport i kohëve të fundit tregon për transmetimin e mundshëm të EHEC nga ajëri pas ekspozimit ndaj një ndërtese të kontaminuar (Kaper et al., 2004).

Termi '*E. coli* enterohemorragjike' (EHEC) është përdorur për të përcaktuar nëngrupin e VTEC që konsiderohet të jetë shumë patogjenik për njerëzit (Duffy, 2014). EHEC quhen gjithashtu *E. coli* që prodhon Shiga toksinë (STEC) dhe *E. coli* që prodhon verotoksinë (VTEC) (Ekici & Dümen, 2019). Faktori kyç i virulencës për EHEC është Shiga toksina (Stx), e cila njihet edhe si verocitotoksina (VT) (Kaper et al., 2004). Ato janë quajtur kështu për shkak të aktivitetit të tyre toksik në linjat qelizore Vero, ose si Stx, për shkak të ngjashmërisë me toksinën e prodhuar nga *Shigella dysenteriae*. *E. coli* që përbën këtë grup EHEC po vazhdojnë të shfaqen për sa i përket potencialit të tyre virulent dhe mjeteve dhe vektorëve me anë të të cilëve ato transmetohen tek njerëzit (Duffy, 2014).

*E. coli* O157: H7, e definuar për herë të parë pas shpërthimit të lidhur me konsumin e mishit të grirë të pagatuar në vitin 1982, është shkaku kryesor i infeksioneve të shkaktuara nga EHEC në vendet e industrializuara përfshirë SHBA – të, Kanadanë dhe Anglinë. O26, O103, O111 dhe O145 mund të renditen në mesin e serogrupeve të tjerë EHEC përgjegjës për sëmundjet me prejardhje

nga ushqimi. Edhe pse shtamet O157 janë ato që tërheqin më shumë vëmendjen, shtamet e serogrupeve të tjerë EHEC, veçanërisht O111, gradualisht po raportohen gjithnjë e më shumë në të gjithë botën. Shpërthimi më i madh i EHEC O104: H4 ka ndodhur në Gjermani në vitin 2011 me 855 raste HUS në 3842 njerëz dhe 53 vdekje. Kjo incidencë, e cila ngriti shqetësime në të gjithë botën, tregon rëndësinë e EHEC në aspektin e shëndetit të njeriut. Siç u theksua më lartë gjedhet janë rezervuari kryesor në të cilin këta mikroorganizma jetojnë në mënyrë asimptomatike për vite me rradhë. Rezervuarë të tjerë më të vegjël për këta mikroorganizma përfshijnë delet, dhinë, qentë, derrat dhe shpendët. Vende të tjera ku EHEC mund të qëndrojë gjallë për muaj përfshijnë; jashtëqitjet e gjedhit, tokën dhe ujin. Therja ose përpunimi i kafshëve ose kontaminimi i impianteve përmes ujit ose plehut të kontaminuar janë rrugët kryesore të përhapjes së EHEC në zinxhirin ushqimor (Ekici & Dümen, 2019).

Bazuar në ashpërsinë e sëmundjes, EHEC konsiderohet si shtami më serioz i *E. colit* midis patogjenëve ushqimorë. ***E. coli* O157: H7**, ndryshon nga serotipet e tjerë të *E. colit* për shkak të disa karakteristikave të saj, që janë:

- nuk është në gjendje të rritet në ose mbi 42 °C,
- nuk e fermenton sorbitolin,
- nuk ka enzima  $\beta$  – glukuronidazë, dhe
- prodhon enterohemolizina.

Toksina e ngjashme me shigën e prodhuar nga *E. coli* O157: H7 është citotoksike për zorrën e trashë dhe duodenumin e njeriut. Kjo toksinë shkakton akumulimin e lëngjeve në zorrë dhe leziona në zorrën e trashë përmes shkatërrimit të epitelit të kriptit. Intimini e bën ngjitjen në kanalën e zorrëve më të lehtë (Ekici & Dümen, 2019).

Pas 3 – 12 ditëve të periudhës së inkubacionit pas infektimit me *E. coli* O157: H7, vërehet diarre ujore, si dhe ngërçe dhe dhimbje barku (Ekici & Dümen, 2019). Derisa disa raste të infeksionit të shkaktuara ng EHEC paraqiten me diarre të pakomplikuara jo të përgjakshme, në të tjerat, diarreja bëhet e përgjakshme duke çuar në kolit hemorragjik (HC) ose diarre të përgjakshme që vazhdon deri në 1 javë (pesë deri në shtatë ditë) (Duffy, 2014). Megjithatë, shumica e pacientëve shërohen brenda 10 ditëve; në varësi të serotipit të llojit EHEC dhe nëntipit stx, HUS mund të zhvillohet 1 javë pas fillimit të diarresë, e cila mund të çojë në vdekshmëri veçanërisht në fëmijët

dhe të moshuarit (Ekici & Dümen, 2019). Komplikime të tilla kërcënuese për jetën ndodhin afësisht në 20% të rasteve, nga të cilat sindroma hemolitike uremike (HUS) është më e shpeshta. HUS karakterizohet nga mungesa e formimit të urinës dhe dështimi akut i veshkave. Përafërsisht gjysma e të gjithë pacientëve me HUS kërkojnë dializë renale. HUS ndodh më shpesh tek fëmijët nën moshën 10 vjeçare. Një ndërlikim tjetër që mund të ndodhë është purpura trombocitopenike (TTP), e cila karakterizohet nga gjakderdhja nga enët e vogla të gjakut në lëkurë dhe mukozën me mungesë të trombociteve të gjakut (Duffy, 2014). Koma, sulmi në tru, shpimi i zorrës së trashë, pankreatiti dhe hipertensioni përfshihen ndër ndërlikimet e tjera të HUS. Është vlerësuar se çon në zhvillimin e hershëm të dështimit kronik të veshkave në 15% të rasteve. Dializa është e nevojshme për pacientët me HUS dhe shkalla e vdekshmërisë është 35%. Për më tepër, vërehet më shpesh tek gratë (70%) dhe gjatë shtatzënisë (13%). Megjithëse, ende mungon një trajtim i mirë për këtë infeksion, janë sugjeruar disa strategji të reja trajtimi siç është përdorimi i antitropave anti - verotoksinë (anti - Shigatoksinë). TTP, nga ana tjetër, është klinikisht e ngjashme me HUS dhe ethet, dhimbjet e barkut, hemorragjitë gastrointestinale dhe çrregullimet e sistemit nervor qendror janë të listuara ndër ndërlikimet që mund të zhvillohen. Shpesh, ajo formon mpiksje gjaku në tru dhe rezulton në vdekshmëri (Ekici & Dümen, 2019).

Numri i *E. coli* O157 që kërkohet për të shkaktuar sëmundje është shumë i ulët dhe është raportuar të jetë deri në 10 njësi të kolonive të formuara (cfu), por ka pak njohuri në lidhje me dozën infektive për serogrupet e tjera EHEC. Në përgjithësi, infeksionet njerëzore EHEC janë përgjithësisht me prevalencë të ulët me Bashkimin Evropian që raporton gjithsej 0.83 raste në vitin 2010 (Duffy, 2014).

## **2.5. Hyrja e *Escherichia coli* në zinxhirin ushqimor**

Mikroorganizma të ndryshëm mund të gjenden në ushqimet me origjinë bimore dhe shtazore. Llojet dhe numri i mikroorganizmave që gjenden në ushqim mund të ndryshoj gjatë të gjitha fazave të prodhimit të ushqimit (Ekici & Dümen, 2019). Meqenëse *E. coli* gjendet natyrshëm në traktin intestinal të kafshëve, hyrja e saj në ushqime më së shpeshti ndodh nga kontakti direkt ose indirekt me materialin fekal (Venkitanarayanan & Doyle 2003). Kështu, burimi i *E. colit* në pothuajse të gjitha rastet e kontaminimit të ushqimit dhe ujit mund të gjurmohet nga ekspozimi ndaj materieve fekale në një moment të zinxhirit ushqimor; qoftë në fermë, në fabrikën e përpunimit, në transport, gjatë shitjes me pakicë, në restorant, apo edhe gjatë përgatitjes në shtëpitë



tona (Ingerson-Mahar & Reid, 2011). Dy rrugë të rëndësishme me të cilat ushqimet mund të kontaminohen në mënyrë fekale me *E. coli* përfshijnë:

- 1. Kontaminimi nga përpunuesit e ushqimit** (Venkitanarayanan & Doyle, 2003). Trajtimi jo i duhur i ushqimit, higjiena e dobët personale dhe përpunuesit e ushqimit të infektuar asimptomatikë mund të kontaminojnë ushqimin dhe të shkaktojnë infeksione të *E. coli* patogjene (Feng, 2013). Kjo mund të parandalohet me edukimin e përpunuesve të ushqimit në praktikatat e duhura higjienike, p.sh. larja e duarve tërësisht pas defekimit (Venkitanarayanan & Doyle, 2003). Gjithashtu, përpunuesit e ushqimit që shfaqin simptoma gastrointestinale nuk duhet të përgatisin vakte, të shërbejnë ushqime ose të trajtojnë pjatat dhe enët e pastra të shërbimit (Feng, 2013).
- 2. Kontaminimi i produkteve shtazore me materie fekale nga kafsha.** Gjatë therjes dhe operacioneve të mëpasshme të përpunimit, mund të ndodhë kontaminimi i karkasave me *E. coli* O157:H7 nga trakti gastrointestinal ose jashtëqitjet e kafshëve. Praktikatat dhe trajtimet higjienike të therjes për pastrimin dhe dezinfektimin e karkasave mund të jenë joefikase në largimin e plotë të baktereve nga karkasat. Gjatë mjeljes së bagëtive qumështore, qumështi mund të kontaminohet me *E. coli*. Një studim ka zbuluar se 46% e mostrave të qumështit të papërpunuar dhe 29% e produkteve të qumështit përmbanin *E. coli* (Venkitanarayanan & Doyle, 2003).

*E. coli* patogjene ekskretohen në jashqitjet e nikoqirëve të sëmurë ose të shëndetshëm. Ripërtpësit dhe kafshët e egra duket se janë rezervuarët kryesorë të STEC dhe EHEC, ndërsa nikoqiri njeri mund të jetë më i rëndësishëm për patotipet e tjera. Për shkak të përhapjes së gjerë të materialit fekal të njerëzve dhe kafshëve në mjedis, bakteret kanë potencialin të jenë të pranishme në zonat e përdorura për prodhimin e ushqimit. Për shembull, *E. coli* mund të gjendet në plehun e kafshëve dhe ujërat e zeza (deri në kompostimin e plotë), në mjedise fermash dhe peri-urbane të kontaminuara nga njerëzit, bagëtitë, kafshët dhe zogjtë e egër, tokat e modifikuara me pleh organik dhe burimet e ujit të kontaminuar (FAO, 2011).

Uji gjithashtu mund të shërbejë si mjet për kontaminimin e ushqimeve me *E. coli*. Shpërthime të shkaktuara nga uji të infeksioneve me *E. coli* O157: H7 janë raportuar në SHBA, Skoci, Kanada dhe Japoni. *E. coli* O157 u implikua në një shpërthim të shkaktuar nga uji në Afrikën e Jugut. Të paktën katër shpërthime të shkaktuara nga uji të infeksionit me *E. coli* O157:

H7 në SHBA u shoqëruan me ujin për not në liqene. Meqenëse ujërat natyrore shpesh përmbajnë *E. coli* me origjinë shtazore dhe mund të kontaminohen me feces kafshësh dhe ujëra të zeza njerëzore të patrajuara, përdorimi i tyre në mbledhjen ose përpunimin e ushqimit mund të shkaktojë kontaminim të produkteve ushqimore, p.sh.,

- **Kontaminimi i drejtpërdrejtë i ushqimeve të detit.** Ky është veçanërisht një problem te butakët, por gjithashtu është vërejtur edhe në shumë lloje të tjera ushqimesh deti.
- **Kontaminimi i bimëve gjatë ujitjes ose plehërimit.** Në disa zona, ujërat e zeza të papërpunuara të njeriut përdoren për të plehëruar (fertilizuar) kulturat e destinuar për konsum njerëzor. Frutat dhe perimet e rritura në tokë të plehëruar me pleh bagëtish ose të ujitura me ujë të kontaminuar me pleh bagëtish kanë potencialin të jenë një mjet transmetues i *E. coli* O157:H7. Një shpërthim i sëmundjes i shkaktuar nga *E. coli* O157:H7 ndodhi pas trajtimit të patateve që ishin plehëruar me pleh organik lope (Venkitanarayanan & Doyle, 2003).
- **Kontaminimi i pajisjeve të përpunimit të ushqimit ose e sipërfaqeve në kontakt me ushqimin (kontaminimi i kryqzuar).** Për të reduktuar kontaminimin e kryqëzuar midis ushqimeve, tavolinat, dërrasat prerëse, paisjet dhe enët duhet të pastrohen pas kontaktit me mish të papërpunuar dhe perime të sallatës. Gjithashtu, ushqimet e gatuar nuk duhet të vendosen përsëri në pjata të palara që më parë mbanin mish të patrajuar, mish pule ose ushqim deti, ku mund të bien në kontakt me lëngjet e papërpunuara. (Venkitanarayanan & Doyle, 2003 & Feng, 2013).

## 2.6. Incidenca e *Escherichia coli* në ushqim

Ushqimi i kontaminuar është një shqetësim i madh shëndetësor, veçanërisht në vendet në zhvillim. Derisa është e vështirë të vlerësohet incidenca e sëmundjeve të shkaktuara nga ushqimi, vlerësime të ndryshme konsiderojnë se të paktën një e treta e popullsisë preket çdo vit në vendet e zhvilluara. Megjithatë, duke qenë se jo të gjitha rastet raportohen në sistemet e mbikëqyrjes epidemiologjike, incidenca reale është padyshim më e lartë. Në vendet në zhvillim, problemi është edhe më i rëndë, sepse të dhënat e sëmundjeve të shkaktuara nga ushqimi janë rrallë të disponueshme (Galli et al, 2016).

Meqenëse ushqimet e papërpunuara me origjinë shtazore dhe bimore janë subjekt i kontaminimit të mundshëm fekal, *E. coli* është izoluar nga një shumëllojshmëri e gjerë ushqimesh. Ushqimet që janë shoqëruar me shpërthime të infeksioneve me *E. coli* përfshijnë mishin dhe produktet e mishit, peshkun, shpendët, qumështin dhe produktet e qumështit, perimet dhe ujin (Venkitanarayanan & Doyle 2003). Ushqimi mund të kontaminohet dhe/ose të kontaminohet në mënyrë të kryqëzuar gjatë rritjes dhe korrjes (produktet e hortikulturës), grumbullimit (qumështi), ose therjes (mishi). Kontaminim i mëtejshëm mund të ndodhë gjatë trajtimit pas vjeljes, transportit, përpunimit dhe trajtimit johigjienik të ushqimit gjatë përgatitjes. Faktorët që kontribuojnë në qëndrueshmërinë e *E. coli* në sistemet ushqimore përfshijnë kontrollin e pamjaftueshëm të parametrave të përpunimit (p.sh. temperatura e gatimit, vlera e pH - së, aktiviteti i ujit ( $a_w$ ) dhe ruajtja në temperatura të ngrohta për kohë të mjaftueshme për të lejuar rritjen) (FAO, 2011). Incidenca e *E. coli* në ushqime ndryshon shumë në vende të ndryshme. (Venkitanarayanan & Doyle 2003).

Një shumëllojshmëri e madhe ushqimesh është përfshirë në infeksionet e shkaktuara nga EPEC, ETEC, EIEC dhe EHEC në mbarë botën. Dihet pak për burimet e EAEC dhe DAEC, por këto dy grupe patogjene mendohet se shpërndahen kryesisht nga kontakti (Feng, 2013). Në komunitetet me kanalizime dhe higjienë të dobët, janë të përhapura *E. coli* enterotoksigenike (ETEC), *E. coli* enteroinvazive (EIEC) dhe *E. coli* enteropatogjenike (EPEC). Ato fitohen nga konsumimi i ushqimit dhe ujit të kontaminuar dhe nga kontaminimi i kryqëzuar përmes kontaktit të drejtpërdrejtë me njerëzit. *E. coli* patogjene nga ushqimi janë shfaqur në mënyrë paradoksale edhe në komunitetet me kanalizime dhe higjienë të zhvilluar më mirë. Megjithatë, patotipet ndryshojnë (p.sh. STEC, EHEC dhe *E. coli* enteroagregative [EAggEC]) dhe rrugët e transmetimit shpesh përfshijnë produkte kafshësh ose kopshtarie të papërpunuara ose të përpunuara në mënyrë joadekuate, kontakt me plehun e kafshëve, ujë të kontaminuar dhe kontaminim të kryqëzuar me ushqim të papërpunuar (FAO, 2011).

Shembuj të ushqimeve të kontaminuara përfshijnë: mishin e papërpunuar/të papërpunuar mjaftueshëm (mish i fermentuar, mish viçi i grirë i papjekur, etj.), produkte qumështi të papasterizuara (djathë, qumësht, etj.), lëngje frutash të papasterizuara dhe perime të papërpunuara (fara të mbira, marule, spinaq, pjepër, kërpudha, etj.) (FAO, 2011). Meqë ky punim ka në fokus produktet me origjinë shtazore, mishin e grirë të gjedhit dhe mishin e pulës (mishin e bardhë dhe

mushkritë dhe zemrën e pulës) konkretisht në vijim do të shtjellohet mundësia e kontaminimit të këtyre kategorive të ushqimit me *E. coli* patogjene.

### **2.6.1. *Escherichia coli* në mish të gjedhit**

Në industrinë e mishit, rëndësia e *Escherichia coli* enterohemorragjike (EHEC) si një problem serioz i shëndetit publik është shumë e njohur. Në mbarë botën, është raportuar për sëmundje ushqimore të lidhura me konsumin e produkteve të mishit të kontaminuara nga EHEC dhe *E. coli* O157: H7 është serotipi më i shpeshtë i lidhur me sëmundje ushqimore. Ripërtpësit janë rezervuari natyror për këto baktere dhe kontaminimi i ushqimit ndodh nga kontaminimi direkt ose indirekt fekal (Chagnot et al., 2017). Në zinxhirin e mishit, kontaminimi me EHEC mund të ndodhë gjatë therjes dhe largimit të lëkurës së karkasës dhe vjen kryesisht nga lëkura e kafshës, fecesi ose përmbajtja gastrointestinale. Operacionet e heqjes së lëkurës së karkasave që mund të zvogëlojnë numrin e EHEC përfshijnë prerjen e zonave dukshëm të pista të karkasave, larjen e karkasave (ujë i nxehtë) dhe pasterizimin me avull. Larja e karkasave me dekontaminantë (acide organike) është e popullarizuar në Shtetet e Bashkuara, por aktualisht nuk lejohet në Bashkimin Evropian (Duffy, 2014).

Mishi i grirë i gjedhit i papërpunuar termikisht është një medium i mirë për rritjen e shpejtë të mikroorganizmave (Siriken, 2004). Kështu mishi i grirë dhe produktet e mishit të grirë janë shoqëruar me një numër të konsiderueshëm infeksionesh të shkaktuara nga EHEC (Duffy, 2014). Edhe pse *E. coli* në produktet e mishit, buron kryesisht nga lëkura e kafshëve që theren dhe transferohet në copëza të prera të mishit, dhe më pas tek mishi i bluar gjatë largimit të lëkurës dhe ndarjes së karkasës. Ende ka paqartësi në lidhje me lidhjen e saktë midis *E. coli* të gjetur në karkasat me lëkurë dhe asaj të gjetur në mish në fazat e mëvonshme të përpunimit. Vështirësitë në vlerësimin e rrezikut të kontaminimit rrjedhin nga fakti se ai varet nga shumë faktorë, siç janë kushtet e prodhimit në fabrikat e përpunimit të mishit, rrjetet e shpërndarjes, metodat e gatimit, etj. (Kitanov & Willms, 2018).

Në përgjithësi, fibrat e brendshme të muskujve janë relativisht pa mikroorganizma, por sipërfaqet e jashtme të cilat janë të ekspozuara mund të jenë të kontaminuara me EHEC. Gjatë grirjes, sipërfaqja e ekspozuar rritet dhe çdo organizëm patogjen që gjendet në sipërfaqen e mishit do të shpërndahet në të gjithë produktin e grirë (Duffy, 2014). Probabiliteti i përhapjes së *E. coli* O157: H7 gjatë procesit të grirjes mund të jetë më i larti në zinxhirin e mishit. Një karkasë e

kontaminuar me *E. coli* O157: H7 mund ta përhapë shpejt bakterin në të gjithë grupin e mishit të grirë nga lopët e pa infektuara (Lahmer, Williams, & Jones, 2017). Mishi dhe produktet e mishit që janë të kontaminuara me EHEC vetëm në sipërfaqe vriten lehtësisht nga zierja (trajtimi termik). Por kur mishi i kontaminuar ose copëzat përdoren për të bërë mish viçi të grirë, patogjeni përzihet në produkt dhe mund të qëndrojë në mish të grirë të ngrirë për muaj të tërë dhe nuk vritet nëse mishi nuk gatuhet mirë. Prandaj, rreziqet shëndetësore që lidhen me konsumimin e mishit të grirë të papjekur ose të pjekur pamjaftueshëm vazhdojnë (Feng, 2013).

### **2.6.2. *Escherichia coli* në mish të pulës**

Mish i pulës është një nga produktet e mishit me konsum të lartë në të gjithë globin, si në vendet e zhvilluara ashtu edhe në ato në zhvillim. Global Livestock Counts raporton se ka pothuajse 19 miliardë pula në botë duke e bërë atë specien më të zakonshme të shpendëve. Evropa konsumon mesatarisht 2,5 kg mish pule për kokë banori në vit (Mpundu, Mbewe, Muma, Zgambo, & Munyeme, 2019). Mishi i shpendëve mund të kontaminohet me një sërë mikroorganizmash, përfshirë mikroorganizmat që janë të aftë për të prishur produktin gjatë ruajtjes në ftohje dhe patogjenë të caktuar ushqimor (Mead, 2004). *E. coli* është bakterie komensiale e pulave, që gjendet në mikroflorën e zorrëve. Infeksionet nga *E. coli* janë përgjegjëse për humbje të konsiderueshme ekonomike në industrinë e shpendëve në mbarë botën (Seidavi et al., 2010). Në anën tjetër kontaminimi i mishit të shpendëve me patogjenë që vijnë nga ushqimi është problem i rëndësishëm i shëndetit publik, dhe shumë baktere patogjene e kontaminojnë mishin e pulës (Helali & Abdelghani, 2020).

*E. coli* është banor normal i traktit të zorrëve, e cila mund të gjendet në jashtëqitjen e pulës, shtrojë, pluhurin dhe plehrat e brejtësve (Helali & Abdelghani, 2020). Produktet ushqimore të shpendëve janë një burim i rëndësishëm i *E. coli* sepse, në kohën e therjes, ndotja fekale nga zorrët kontaminon lehtësisht karkasat e shpendëve. Si rezultat, mishi i shpendëve mund të kontaminohet me material fekal ose ingesta dhe me baktere të lidhura me këta ndotës (Miranda et al., 2008). Shpendët kolonizohen lehtësisht eksperimentalisht me *E. coli* O157, por kontaminimi i produkteve të shpendëve është shumë i rrallë dhe infeksioni i njeriut me *E. coli* O157 që rezulton nga mishi i shpendëve i kontaminuar është dokumentuar rrallë (Besser, Schmidt, Shah, & Shringi, 2015). Megjithatë *E. coli* është gjetur në produktet e mishit të shpendëve në mbarë botën. Prevalenca e këtij bakteri si në shpendë ashtu edhe në produktet e shpendëve ndryshon në pjesë të ndryshme të

botës. Ky ndryshim pasqyron nivele të ndryshme të praktikave higjienike dhe sistemeve të kontrollit të cilësisë. Vendet me praktika të mira higjienike dhe prodhuese priren të regjistrojnë nivele më të ulëta të kontaminimit në proceset e tyre të thërjes (Mpundu et al., 2019).

Prania e *E. coli* në mish dhe produkte të mishit të pulës është tregues i praktikave të dobëta higjienike në thertore ose zona tregtare (Mpundu et al., 2019). Parandalimi i kontaminimit të ushqimit dhe infeksionit njerëzor nga *E. coli* kërkon masa të vazhdueshme të kontrollit në të gjitha fazat e prodhimit të ushqimit: nga prodhimi bujqësor në përpunimin, prodhimin, transportimin, ruajtjen dhe përgatitjen e ushqimeve si në ndërmarrjet tregtare ashtu edhe në mjedisin shtëpiak (Helali & Abdelghani, 2020).

## **2.7. Parandalimi i kontaminimit të ushqimit me *Escherichia coli***

Meqenëse pikat kyçe të kontrollit priren të ndryshojnë me patotipin përkatës, njohja e epidemiologjisë lokale të sëmundjeve të shkaktuara nga ushqimi është thelbësore në krijimin e një programi të përshtatshëm dhe efektiv të sigurisë ushqimore. Kjo kërkon një qasje shumëdisiplinore që fokusohet në ndërveprimet që ndodhin midis njerëzve, kafshëve dhe bimëve brenda ekosistemeve të tyre. Hapat për zbutjen e rrezikut duhet të ndërmerren duke ndjekur kodet e njohura të praktikave të mira dhe rekomandimet përkatëse të shërbimeve veterinarë dhe shëndetësore publike. Për patotipet, si STEC/EHEC, duhet të analizohet rruga nga ferma te konsumatori. Në fazën e para-vjeljes, hapa të tillë përfshijnë minimizimin e kolonizimit të tufave të bagëtive dhe parandalimin e kontaminimit të të korrave me pleh organik, dhe në fazën pas vjeljes, ato përfshijnë higjienën dhe trajtimin gjatë paketimit të produkteve në thertore dhe në mjelje (FAO, 2011).

Rritja e numrit të infeksioneve patogjene të shkaktuara nga ushqimi ka gjeneruar përpjekje të konsiderueshme në kontrollin e organizmave të tillë si *E. coli* O157 në ushqim. Shumë masa parandaluese janë futur dhe synuar në të gjitha fazat e zinxhirit ushqimor, nga ferma në thertore dhe në përgatitjen e ushqimit në shtëpi (Lahmer, et al., 2017). Konsideratat më të rëndësishme për parandalimin e kontaminimit të ushqimit me *E. coli* janë:

- Parandalimi i ndotjes fekale duke përdorur ujë të pastër, shmangia e materialit fekal gjatë thërjes dhe mjeljes dhe praktikimi i teknikave higjienike të trajtimit të ushqimit;

- Gatim i plotë i të gjitha ushqimeve, veçanërisht ushqimeve me origjinë shtazore, duke përfshirë ushqimet e detit, dhe pasterizimi i qumështit dhe lëngjeve të frutave;
- Shmangia e kontaminimit të kryqëzuar të ushqimeve të gatuar me ushqime të papërpunuara me origjinë shtazore dhe sipërfaqeve të padezinfektuara të pajisjeve të përpunimit të ushqimit;
- Pastrimi dhe dezinfektimi i duhur i pajisjeve të përpunimit të ushqimit;
- Praktikimi i higjienës së mirë personale;
- Ruajtja e ushqimit të gatuar ose që priset në temperaturë 4 °C ose më të ulët (Venkitanarayanan & Doyle 2003).

## **2.8. Shpërthime ushqimore të shkaktuara nga *Escherichia coli***

Kur dy ose më shumë njerëz marrin të njëjtën sëmundje nga i njëjti ushqim ose pije e kontaminuar, ngjarja quhet shpërthim i sëmundjes ushqimore (Center for Food Safety and Applied Nutrition, 2021). Shpërthime të sëmundjes për shkak të konsumit të produkteve të mishit të kontaminuar me mikroorganizma patogjenë janë raportuar në mbarë botën (Nørrung & Buncic, 2008). *E. coli* O157: H7 është izoluar nga njerëzit e sëmurë në mbarë botën. Ka tendencë të raportohet më shpesh nga vendet më të zhvilluara, por kjo mund të ndodhë për shkak të pamjaftueshmërisë së laboratorëve të sofistikuar diagnostik në vendet në zhvillim (Doyle, Archer, Kaspar, & Weiss 2006). Në botën perëndimore, shumica e prodhimit të mishit përqendrohet në fabrika të mëdha të përpunimit të mishit dhe çdo shpërthim i kontaminimit me *E. coli* mund të prekë shumë njerëz në një zonë të gjerë. Përveç rrezikut për shëndetin, shpërthimet shkaktojnë humbje të mëdha ekonomike dhe kanë një ndikim negativ në industrinë e mishit. Rregulloret ekzistuese të sigurisë ushqimore në Kanada dhe SHBA kërkojnë heqjen e të gjitha produkteve dhe lëndëve të para të papërpunuara që lidhen me ngjarjen e identifikuar të kontaminimit. Kjo çon në tërheqjen e sasive të mëdha të mishit, edhe pse pjesa më e madhe e tij ka të ngjarë të jetë e pakontaminuar, dhe rrjedhimisht ndodhin humbje të mëdha në industrinë e mishit (Kitanov & Willms, 2018).

Nga grupet patogjene të *E. coli*, EHEC, dhe veçanërisht sterotipi O157: H7 është implikuar më së shumti në shpërthime në mbarë botën; prandaj, hulumtimi i gjerë dhe zhvillimi i metodave janë fokusuar në këtë grup. Së fundi, EAEC është shoqëruar rrallë me shpërthime të mëdha, megjithëse një shtam i pazakontë EAEC që prodhoi Stx shkaktoi një shpërthim të madh në

Gjermani në vitin 2011, kështu që diskutohet gjithashtu rëndësia e transferimit horizontal të gjenit të virulencës midis *E. coli* patogjene dhe shfaqja e shtameve atipike (Feng, 2013).

### **2.8.1. Shpërthimi i *E. coli* enterohemoragjike (EHEC) O104: H4 në Gjermani**

Në pranverën e vitit 2011, Gjermania përjetoi një nga shpërthimet më të mëdha të *Escherichia coli* enterohemoragjike (EHEC) të raportuara ndonjëherë, pothuajse 3000 njerëz u sëmurën me gastroenterit akut, 855 prej tyre zhvilluan sindromën uremike hemolitike (HUS). Në total, 55 persona vdiqën nga infeksioni. Shpërthimi preku kryesisht pesë shtete në Gjermaninë Veriore, por edhe vizitorë nga 15 vende të tjera dhe u lidh me një shpërthim më të vogël të mëvonshëm në Francë. Shpërthimi zgjati 58 ditë, nga 8 maji deri më 5 korrik 2011. Më 25 maj 2011, shtatë ditë pas njoftimit të parë të shpërthimit, patogjeni shkaktar u identifikua të ishte toksina Shiga (Verocitotoksina) që prodhon *Escherichia coli* O104: H4, një bakter me profil të ri virulence në krahasim me shtamet që zakonisht mbizotërojnë në Evropë. Më 10 qershor - tri javë pas njoftimit të parë të shpërthimit, provat epidemiologjike mbështetën se lakrat fenugreek (fenugreek sprouts), të prodhuara në Gjermani nga farat e importuara nga Egjipti ishin mjeti që shkaktoi shpërthimin. Shpërthimi rezultoi në sfida masive për spitalet, agjencitë e shëndetit publik dhe të sigurisë ushqimore dhe mbulim intensiv të mediave ndërkombëtare. Patë pasoja të rëndësishme ekonomike në industrinë e bujqësisë të vendeve të ndryshme evropiane (Köckerling, Karrasch, Schöeitzer, Razum, & Krause, 2017).

### **2.8.2. Shpërthimi ushqimor i shkaktuar nga *E. coli* enterotoksigenike (ETEC) serotipi O169: H41 në Japoni**

Një shpërthimi masiv i sëmundjes gastrointestinale nga ushqimi i shkaktuar nga *E. coli* enterotoksigenike (ETEC) serotipi O169: H41 ndodhi gjatë një festivali tradicional 2 ditor të mbajtur në shtator të vitit 2012 në prefekturën Osaka, Japoni. Nga 126 klientët që frekuentuan një restaurant japonez gjatë ngjarjes, 102 shfaqën simptoma të sëmundjes gastrointestinale. Bazuar në këto gjetje dhe intervistat e realizuara me pronarin dhe punonjësit e restorantit, u arrit në përfundimin se shkak i mundshëm i shpërthimit ishte kapaciteti i mbingarkuar i kuzhinës së restorantit për sa i përket ruajtjes së procedurave sanitare gjatë festivalit dhe paaftësisë së stafit të restorantit për të trajtuar sasi relativisht të mëdha të ushqimit dhe për të siguruar mungesë kontaminimi me ETEC. Kështu, u rikonfirmua se shtamet ETEC të serotipit O169: H41 mbeten



shkaktarë të rëndësishëm të shpërthimeve të ushqimit në vendet e zhvilluara, përfshirë Japoninë (Harada et al., 2013).

## **2.9. Antibiotikorezistenca e *Escherichia coli***

Infeksionet bakteriale janë shkaku kryesor i sëmundjeve dhe vdekshmërisë në mbarë botën (Browne et al., 2021). Antibiotikët janë komponime me peshë të ulët molekulare që vrasin ose pengojnë rritjen e baktereve (Erjavec, 2019), dhe janë treguar jashtëzakonisht të suksesshëm në përmirësimin e rezultateve shëndetësore, dhe krahas përmirësimeve në ushqimin, ujin e pastër, kanalizimet dhe sigurimin e vaksinimit, kanë ndihmuar në reduktimin global të vdekshmërisë (Browne et al., 2021). Organizata Botërore e Shëndetësisë së fundi e ka njohur Republikën e Kosovës si një nga konsumatorët më të lartë për kokë banori të antibiotikëve për përdorim njerëzor në mesin e vendeve të Evropës Lindore jo të Bashkimit Evropian; megjithatë, të dhënat janë të kufizuara në lidhje me përdorimin e antimikrobikëve dhe rezistencën antimikrobike në sektorin e blegtorisë në Kosovë (Chandler et al., 2018).

Trajtimi me antibiotikë është një nga qasjet kryesore të mjekësisë moderne për të luftuar infeksionet bakteriale, duke përfshirë edhe infeksionet e shkaktuara nga *E. coli* (Erjavec, 2019). Ata janë efikas, të fuqishëm dhe trajtimi më i përdorur kundër *E. coli* patogjene edhe në bujqësinë klinike dhe të kafshëve (Yang, Lin, Aljuffali, & Fang, 2017). Antibiotikët përdoren në kafshët ushqimore për të trajtuar sëmundjet klinike, për të parandaluar dhe kontrolluar ngjarjet e zakonshme të sëmundjeve dhe për të përmirësuar rritjen e kafshëve. Aplikimet e ndryshme të antibiotikëve në kafshë ushqimore janë përshkruar si përdorim terapeutik, përdorim profilaktik dhe përdorim nënterapeutik. Antibiotikët mund të përdoren për të trajtuar një kafshë të vetme me sëmundje klinike ose një grup të madh kafshësh. Megjithatë, këto përdorime të ndryshme janë shpesh të paqarta; përkufizimet e secilit lloj përdorimi ndryshojnë dhe qasjet shpesh aplikohen njëkohësisht në popullatat e bagëtive (Ghita, Bennani, Benboubker, Bennani, 2020).

Megjithatë, bakteret kanë evoluar mekanizma të ndryshëm që japin rezistencë ndaj antibiotikëve (Erjavec, 2019). Rezistenca antimikrobike ndodh kur bakteret i rezistojnë antimikrobikëve që kanë për qëllim t'i shkatërrojnë ato. Përdorimi i pandërprerë i antimikrobikëve në kafshët e fermave për nxitjen e rritjes, trajtimin e kafshëve të sëmura ose si profilaktikë është shkaku kryesor i përhapjes së rezistencës antimikrobike në kafshë. Kjo mund të përhapet tek njerëzit nëpërmjet konsumimit të mishit dhe produkteve të mishit nga kafshët e fermave që

përmbajnë baktere rezistente (Adzitey et al., 2021). Përdorimi i antibiotikëve te kafshët mund të ketë efekte të drejtpërdrejta dhe të tërthorta në shëndetin e njeriut: efektet e drejtpërdrejta janë ato që mund të lidhen shkakisht me kontaktin me bakteret rezistente ndaj antibiotikëve nga kafshët ushqimore, dhe efektet indirekte janë ato që vijnë nga kontakti me organizmat rezistent që janë përhapur, ndaj komponentëve të ndryshëm të ekosistemit (p.sh. uji dhe dheu) si rezultat i përdorimit të antibiotikëve në kafshët ushqimore (Landers, Cohen, & Wittum, 2012). Pra, ekziston gjithashtu mundësia e përhapjes së baktereve rezistente në të gjithë zinxhirin ushqimor, tek njerëzit dhe kafshët nga mjedisi (Adzitey et al., 2021).

*E. coli* rezistente ndaj antibiotikëve është zbuluar në të gjitha pjesët e botës dhe është një nga sfidat më të mëdha për shëndetin publik sot. Për shkak se rezistenca antimikrobike është një fenomen natyror i përzgjedhjes pozitive, keqpërdorimi i antimikrobikëve, programet joadekuate ose inekzistente për parandalimin dhe kontrollin e infeksionit, medikamentet me cilësi të dobët, kapacitetet e dobëta laboratorike, mbikëqyrja joadekuate dhe rregullimi i pamjaftueshëm për përdorimin e barnave antimikrobiale janë faktorë vendimtarë që kontribuojnë në një përhapje në mbarë botën (Ochoa & Gómez-Duarte, 2016). Kështu, rezistenca e baktereve, përfshirë *E. coli*, ndaj antimikrobikëve ka marrë shumë vëmendje kohët e fundit për shkak të shfaqjes së rezistencës ndaj shumë ilaçeve dhe vështirësisë në shkatërrimin e baktereve të tilla kur ato përfshihen në infeksione (Adzitey et al., 2021). Bakteret mund të jenë thelbësisht rezistente ndaj antibiotikëve të caktuar, por gjithashtu mund të fitojnë rezistencë ndaj antibiotikëve nëpërmjet mutacioneve në gjenet kromozomale dhe nga përvetësimi i gjeneve të rezistencës antimikrobiale me transferim horizontal përmes ADN-së epizomale (transpozonët, plazmidet dhe bakterofagët) (Ochoa & Gómez-Duarte, 2016). Bakteret rezistente janë në gjendje

- të modifikojnë/degradojnë antibiotikun,
- të transportojnë në mënyrë aktive antibiotikun jashtë qelizës ose të parandalojnë marrjen e tij
- të sekuestrojnë antibiotikun me proteina të veçanta, ose
- të modifikojnë, anashkalojnë ose mbrojnë objektivin (Erjavec, 2019).

*E. coli* i përket grupit të I-rë të enterobaktereve, i karakterizuar nga një fenotip natyralisht i ndjeshëm ndaj të gjitha  $\beta$ -laktamave. Ajo është gjithashtu e ndjeshëm ndaj klasave të tjera të antibiotikëve, duke përfshirë aminoglikozidet, kinolonet, sulfonamidet, trimethoprim, tetraciklinë

dhe kloramfenikol. Sidoqoftë, ky bakter është një shembull i mirë i evolucionit të rezistencës ndaj antibiotikëve dhe shtamet rezistente ndaj shumë barnave (MDR) po përhapen aktualisht si në mjediset e komunitetit ashtu edhe në spitale (Ghita et al., 2020). Opsionet terapeutike ndryshojnë në varësi të llojit të infeksionit të shkaktuar nga *E. coli*, antimikrobikët duke përfshirë trimethoprim-sulfamethoxazole, fluoroquinolones dhe cefalosporinat e gjeneratës së tretë rekomandohen përgjithësisht për trajtimin e infeksioneve të shkaktuara nga *E. coli*, përveç STEC. Në anën tjetër, për shkak se këta antimikrobikë mund të rrisin nivelet e toksinës së lirë Shiga in vivo, duke lehtësuar kështu përparimin e sëmundjes, përdorimi i antimikrobikëve në trajtimin e infeksionit STEC mbetet më pak i qartë. Raportet e fundit kanë sugjeruar se përdorimi i tetraciklinave, ilaçeve sulfa, cefalosporinave dhe penicilinave është një nga faktot kryesor në shfaqjen dhe përhapjen e *E. coli* rezistente ndaj antimikrobikëve (Schroeder et al., 2002).

Në përgjithësi kontributi i *E. coli* në fenomenin e rezistencës antimikrobike duhet të analizohet në dy kontekste të ndryshme, por plotësuese, që në një moment takohen në një çështje të përbashkët: ndikim i gjerë në shëndetin e njeriut. Këto dy këndvështrime përfshijnë:

1. **Numrin në rritje të infeksioneve** në të gjithë botën të shkaktuar nga shtame *E. coli* rezistente ndaj shumë ilaçeve në vetvete dhe
2. **Aftësinë e këtij bakteri për të transmetuar tiparet e tij rezistente gjenetike tek bakteret e tjera.**

*E. coli* ka evoluar këto dy attribute që e kanë bërë këtë mikroorganizëm një faktor të rëndësishëm në pandeminë e rezistencës ndaj antibiotikëve për shkak të lehtësisë së transmetimit midis njerëzve dhe nga kafshët tek njerëzit përmes rrugës fekale-orale. Së dyti, aftësia e mikroorganizmave për të kolonizuar zorrën e njerëzve dhe kafshëve lejon që ajo të jetë në bashkëveprim të ngushtë me një numër të bollshëm të baktereve të ndryshme, ndërveprim që i jep *E. coli* - it dualitetin të silllet si dhurues i materialit gjenetik për bakteret e tjera dhe aftësinë për të marrë gjenet e rezistencës nga mikroorganizmat e tjerë (Galindo-Méndez, 2020).

Shtamet e *E. coli* rezistente ndaj antimikrobikëve janë të përhapura gjerësisht në Evropë, si te njerëzit ashtu edhe te kafshët që prodhojnë ushqim. Siç raportohet në Raportin Vjetor 2018 të Rrjetit Evropian të Mbikëqyrjes së Rezistencës Antimikrobiale (EARS-Net), më shumë se gjysma e izolateve të *E. coli* në Evropë ishin rezistente ndaj të paktën një klase të antimikrobikëve. Rezistenca ndaj aminopenicilinës, e ndjekur nga një rezistencë ndaj fluorokinoloneve,

cefalosporinave të gjeneratës së tretë dhe aminoglikozideve, ishin më të përhapurat. Për më tepër, reduktimi i *E. coli* rezistente ndaj antimikrobikëve në Evropë ishte shumë i ulët ose inekzistent midis viteve 2015 dhe 2018, ku *E. coli* ishte barra kryesore e rezistencës antimikrobike si në numrin e rasteve ashtu edhe në numrin e vdekjeve (Ramos et al., 2020).

Në vijim do të shqyrtohen karakteristikat kryesore të antibiotikëve të përdorur në këtë hulumtim.

### **2.9.1. Acidi Nalidiksik**

I prezantuar në fillim të viteve 1960, është anëtari i parë i familjes së kinolonëve, të cilët janë agjentë antibakterialë të sintetizuar dhe përdorur klinikisht. Ky derivat i kinolonit dështoi të arrinte përqendrime adekuatë në plazmë ose inde, por u përqendrua në urinë, prandaj iu dedikua trajtimit të infeksioneve të traktit urinar. Sinteza e acidit nalidiksik promovoi një sërë studimesh që çuan në zhvillimin e antibiotikëve të rinj kinolone me spektër të gjerë të aktivitetit baktericid, biodisponibilitet të shkëlqyer oral, depërtim të mirë në inde dhe profile të favorshme të sigurisë dhe tolerancës. Acidi nalidiksik pengon sintezën e ADN-së duke nxitur ndarjen e ADN-së bakteriale, e cila rezulton në vdekjen e shpejtë bakteriale. Është veçanërisht efektiv kundër baktereve Gram-negative si *Escherichia coli* (99% e shtameve) dhe koliformeve të tjera të baktereve si *Klebsiella* (92% e shtameve) dhe *Enterobacter aerogenosa*, por rezistent ndaj shumicës së *Pseudomonas sp.* (Popiołek & Gaërońska-Grzywacz, 2015). Rezistenca ndaj antibiotikëve është një problem serioz që kur acidi nalidiksik u fut në mjekësinë klinike. Me kalimin e kohës, rezistenca e mikrobeve patogjene ndaj acidit nalidiksik çoi në hartimin e varianteve të reja për të ringjallur aplikimin e tij të mundshëm. Acidi nalidiksik nuk është më në përdorim klinik për shkak të rezistencës bakteriale dhe zhvillimit të antimikrobikëve më efektivë (Pandey, Aggarwal, Adholeya, & Kochar, 2018).

### **2.9.2. Linezolidi**

Mund të konsiderohet si anëtari i parë i klasës së antibiotikëve oksazolidinone. Oksazolidinonet u prezantuan për herë të parë në vitin 1978 për efektivitetin e tyre në kontrollin e sëmundjeve të bimëve. Gjashtë vjet më vonë, u dokumentuan karakteristikat e tyre antibakteriale, me veti antibakteriale të përmirësuara ndjeshëm në krahasim me përbërjet e tyre paraardhëse (Hashemian, Farhadi, & Ganjparvar, 2018). Spektri i tij i aktivitetit është kryesisht kundër

baktereve Gram-pozitive, duke përfshirë stafilokokët e ndjeshëm dhe rezistent ndaj meticilinës, enterokoket dhe pneumoninë *Streptococcus* (Prydal, 2005). Linezolid ka demonstruar efektivitet klinik për trajtimin e infeksioneve të traktit respirator dhe lëkurës dhe indeve të buta të shkaktuara nga një sërë patogjenësh Gram-pozitiv (Pfaller, Mendes, Streit, Hogan, & Flamm, 2017). Përdorimi i linezolidit është raportuar gjithashtu edhe te qentë për trajtimin e infeksioneve MRS (methicillin-resistant *Staphylococcus*) si discospondylitis dhe pyoderma e thellë (Chou, Yoon, Hersh-Boyle, & Marcellin-Little, 2020).

### **2.9.3 Vankomicina**

Është një antimikrobik glikopeptid që rrjedh nga aktinomiceti *Streptomyces orientalis* (DeStefano, Wayne, Rozanski, & Babyak, 2018) i cili shfaq aktivitet baktericid duke frenuar sintezën e murit qelizor kundër baktereve Gram-pozitive aerobe dhe anaerobe. Vankomicina është aktive kundër shumicës së shtameve të Clostridia, pothuajse të gjitha shtameve të *Staphylococcus aureus* (përfshirë ato që prodhojnë  $\beta$  - laktamaza dhe shtame rezistente ndaj meticilinës), stafilokokut koagulazë negativ dhe stafilokokut dhe Enterokokëve të grupit Viridans. Vankomicina nuk është efektive kundër baktereve Gram-negative. Është një nga antibiotikët e fundit, i përdorur vetëm pasi trajtimi me antibiotikë të tjerë ka dështuar në trajtimin e infeksioneve kërcënuese për jetën nga bakteret Gram-pozitive. Edhe pse vankomicina ka potencial të madh në trajtimin e infeksioneve tek kafshët, përdorimi i vankomicinës në mjekësinë veterinare është i kufizuar sepse është i shtrenjtë dhe kërkon infuzion të vazhdueshëm intravenoz (Wijesekara, Kumbukgolla, Jayaweera, & Rawat, 2017).

### **2.9.4. Eritromicina**

Është antibiotik makrolid. Makrolidet janë komponime natyrore të prodhuara nga speciet *Streptomyces* që janë klasa më e përdorur e antibiotikëve. Makrolidi i parë me 14 anëtarë, eritromicina A, është në përdorim klinik që nga viti 1952. Eritromicina është aktive kundër mikroorganizmave Gram-pozitiv dhe disa Gram-negativ dhe përdoret në trajtimin e infeksioneve të frymëmarrjes, gastrointestinale dhe traktit gjenital, si dhe në infeksionet e lëkurës dhe të indeve të buta (Jelić & Antolović, 2016). Është një ilaç i shpeshtë i zgjedhur në mjekësinë veterinare. Përdoret në trajtimin e mastitit klinik dhe subklinik tek gjedhet në laktacion, për trajtimin e sëmundjeve infektive të shkaktuara nga bakteret e ndjeshme ndaj eritromicinës (gjedhet, delet,

derrat dhe shpendët) dhe për trajtimin e sëmundjeve kronike të frymëmarrjes për shkak të mikoplazmës në shpendë (Roberts & Squibb, 2014).

### **2.9.5. Tetraciklina**

Tetraciklinat, të cilat u zbuluan në vitet 1940, janë një familje antibiotikësh që pengojnë sintezën e proteinave duke parandaluar lidhjen e aminoacil-ARNt në vendin e pranuesit ribozomal (A). Ato janë agjentë me spektër të gjerë, që shfaqin aktivitet kundër një game të gjerë bakteresh Gram-pozitive dhe Gram-negative, organizmave atipikë si klamidia, mikoplazmat dhe riketsiae, dhe parazitëve protozoar. Vetitë e favorshme antimikrobike të këtyre agjentëve dhe mungesa e efekteve anësore të mëdha negative kanë çuar në përdorimin e tyre të gjerë në terapinë e infeksioneve të njerëzve dhe kafshëve. Ato përdoren gjithashtu në mënyrë profilaktike për parandalimin e malaries të shkaktuar nga *Plasmodium falciparum* rezistent ndaj meflokinës. Për më tepër, në disa vende, përfshirë Shtetet e Bashkuara, tetraciklinat shtohen në nivele nënterapeutike në ushqimet e kafshëve për të vepruar si nxitës të rritjes. Megjithëse tetraciklinat luajnë role të rëndësishme si në mjekësinë njerëzore ashtu edhe në atë veterinare, shfaqja e rezistencës mikrobike ka kufizuar efektivitetin e tyre. Padyshim që përdorimi i tetraciklinave në praktikën klinike ka qenë përgjegjës për përzgjedhjen e organizmave rezistente (Chopra & Roberts, 2001).

### **2.9.6. Gentamicina**

Është një antibiotik aminoglikozid. Ajo shfaq aktivitet baktericid kundër baktereve aerobe Gram-negative, gjë që e bën gentamicinën një opsion të mirë për trajtimin e disa infeksioneve të zakonshme. Meqenëse gentamicina ka një përthithje minimale gastrointestinale, administrimi i saj zakonisht bëhet me rrugë parenterale, duke përfshirë formulimet sistemike, topikale dhe oftalmike. Megjithëse ka raporte për shtame rezistente të baktereve Gram-negative, shumica e këtyre mikrobeve, të cilat kanë metabolizëm aerobik ose fakultativ, janë të ndjeshme ndaj gentamicinës dhe aminoglikozideve të tjera. Mikroorganizmat më të zakonshëm në mjediset klinike që paraqesin përgjigje të përshtatshme terapeutike janë anëtarët e familjes Enterobacteriaceae (p.sh., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia* spp. dhe *Enterobacter* spp.), *Pseudomonas aeruginosa*, dhe disa shtame të Neisseria, dhe Moropheraem. Një përqindje e konsiderueshme e stafilokokut koagulazë-negativ dhe izolateve të *Staphylococcus aureus* të ndjeshme ndaj

metilicilinës tregojnë frenim nga gentamicina në përqendrimin klinik të barit, megjithëse ato mund të zhvillojnë lehtësisht rezistencë (Chaves & Tadi, 2021). Në mjekësinë veterinare, gentamicina përdoret kryesisht si tretësirë për injeksion për derrat, gjedhet dhe kuajt dhe si tretësirë për gojë për shpendët (Anonymous, 2018).

### **2.9.7. Kloramfenikoli**

Është një përbërës natyral nitroaromatik (Guo, Lee, & Jeong, 2020) i cili u përfitua fillimisht nga bakteri *Streptomyces venezuelae*, i izoluar nga Ehrlich në vitin 1947 dhe u fut në praktikën klinike me emrin tregtar Chloromycetin. Meqenëse funksionon duke frenuar sintezën e proteinave bakteriale, kloramfenikoli ka një spektër shumë të gjerë aktiviteti kundër baktereve Gram-pozitive (duke përfshirë shumicën e shtameve të MRSA), baktereve Gram-negative dhe anaerobeve. Kloramfenikoli është braktisur në vendet e zhvilluara për shkak të lidhjes së tij me efekte negative serioze, duke përfshirë aneminë aplastike të pakthyeshme dhe fatale. Megjithatë, ai ende përdoret gjerësisht në botën në zhvillim, pavarësisht nga zbulimi i antimikrobikëve të rinj me aktivitet më të mirë dhe më pak efekte anësore, për të trajtuar disa lloje të infeksioneve serioze bakteriale kur antibiotikët e tjerë nuk mund të përdoren (Čivljak, Giannella, Bella, & Petrosillo, 2014). Kloramfenikoli është i ndaluar për përdorim në kafshët prodhuese ushqimore në Bashkimin Evropian (EU/37/2010 2010) dhe në shumë vende të tjera, duke përfshirë Shtetet e Bashkuara, Kanada, Australi, Japoni dhe Kinë (Nordkvist, Zuidema, Herbes, & Berendsen, 2016).

### **2.9.8. Doksiciklina**

U zhvillua nga Pfizer dhe është derivat gjysmë sintetik i oksitetraciklinës që u bë i disponueshëm për herë të parë në vitin 1967. Ajo ka avantazhin ndaj anëtarëve të tjerë të familjes së tetraciklinave të përthithjes së përmirësuar nga goja dhe një gjysmë jete të zgjatur në serum. Doksiciklina ka aktivitet kundër një game shumë të gjerë bakteresh Gram-pozitive, Gram-negative dhe 'atipike', si dhe disa protozoar si malaria. Është gjithashtu një antibiotik i dobishëm për profilaksinë dhe trajtimin e disa agjentëve të rëndësishëm të mundshëm të luftës biologjike. Si e tillë përdoret gjerësisht në shumë pjesë të botës, veçanërisht për infeksionet seksualisht të transmetueshme, infeksionet e traktit respirator, profilaksinë e malaries dhe për terapinë e disa infeksioneve rikeciale të shkaktuara nga artropodët (Holmes & Charles, 2009). Doksiciklina është

tetraciklina më e përdorur në praktikën e kafshëve të vogla (Maaland, Papich, Turnidge, & Guardabassi, 2013).

### **2.9.9. Streptomicina**

Është antibiotik aminoglikozid i izoluar fillimisht nga bakteret *Streptomyces griseus*. Është antibiotiku i parë aminoglikozid i zbuluar. Përdorimi i tij trajton kryesisht infeksionet bakteriale aerobike Gram-negative, të tilla si bruceloza, tularemia, murtaja (*Y. pestis*), tuberkulozi (në kombinim me isoniazid, pirazinamide dhe rifampinë) dhe disa raste të endokarditit kur kombinohen me antibiotikë  $\beta$ -laktam. Ndryshe nga antibiotikët e tjerë aminoglikozidë, përkatësisht gentamicina dhe tobramicina, i mungon aktiviteti kundër *Pseudomonas aeruginosa*. Spektri fillimisht i gjerë i aktivitetit kundër baktereve Gram-negative dhe Gram-pozitive është zvogëluar kryesisht për shkak të zhvillimit të rezistencës ndaj antibiotikëve. Mekanizmi i rezistencës duket të jetë i lidhur me frenimin e transportit aktiv të tij në qelizën bakteriale. Bakteret rezistente zakonisht përfshijnë Enterobacteriaceae dhe shumicën e llojeve të Streptokokëve (Waters & Tadi, 2021). Duke qenë e lirë dhe efektive, streptomicina përdoret gjerësisht në mjekësinë veterinarë për të trajtuar infeksionet, për të promovuar rritjen e kafshëve dhe për të ndihmuar zhvillimin social (Araby, Nada, Abou El-Nour, & Hammad, 2020).

### **2.9.10. Nitrofurantoini**

Është antibiotik që përdoret për trajtimin e infeksioneve të pakomplikuara të traktit të poshtëm urinar. Është efektiv kundër shumicës së organizmave Gram-pozitiv dhe Gram-negativ. Nitrofurantoini u miratua nga FDA në vitin 1953 për trajtimin e infeksioneve të traktit të poshtëm urinar. Është një antimikrobik sintetik i krijuar nga furani dhe një grup nitro i shtuar dhe një ndryshim anësor që përmban hidantoinë, u përdor gjerësisht për trajtimin e infeksioneve të traktit të poshtëm urinar deri në vitet 1970 kur trimethoprim-sulfamethoxazole dhe antibiotikët më të rinj  $\beta$ -laktam u bënë të disponueshëm. Kohët e fundit, disa udhëzime kryesore kanë shpallur nitrofurantoin si terapinë e linjës së parë për trajtimin e infeksioneve të pakomplikuara të traktit të poshtëm urinar. Rritja e rezistencës ndaj antibiotikëve më të rinj që përkon me prevalencën në rritje të baktereve që prodhojnë  $\beta$ -laktamazë me spektër të zgjeruar (ESBL) ka çuar në një rishfaqje të përdorimit të nitrofurantoinit. Nitrofurantoin është baktericid kundër shumicës së patogjenëve të zakonshëm të traktit urinar, duke përfshirë *Escherichia coli*, Enterococci, Klebsiella,



*Staphylococcus saprophyticus* dhe *Enterobacter*. Spektri i tij i ndjeshmërisë përfshin gjithashtu *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Neisseria*, *Bacteroides*, streptokoku i grupit B, *Staphylococcus aureus* dhe *Staphylococcus epidermidis*. Rezistenca ndaj nitrofurantoinit mbetet relativisht e rrallë pavarësisht përdorimit të gjerë për disa dekada (Squadrito & Portal, 2021). Përdorimi në kafshë nuk është aq i zakonshëm, por mund të konsiderohet për disa raste të infeksionit të traktit urinar (Papich, 2016).

### **2.9.11. Penicilina**

Është antibiotiku më i vjetër i pastër në dispozicion. Alexander Fleming i pari vëzhgoi inhibimin e stafilokokut në një pjatë agari të kontaminuar me mykun *Penicillium* në vitin 1928. Testimi klinik i izolatit të tij filloi në vitet 1940, por kërkesat e Luftës së Dytë Botërore vonuan futjen e ilaçit në tregun e përgjithshëm deri në vitin 1946. Penicilina transformoi trajtimin e sëmundjeve infektive dhe frymëzoi kërkimin për klasa tjera të antibiotikëve. Zbulimi i penicilinës njihet si një ngjarje thelbësore në historinë e mjekësisë së shekullit të njëzetë (Miller, 2002). Penicilina është një nga antibiotikët më të përdorur në botë, pasi ka një gamë të gjerë indikacionesh klinike. Është efektive kundër llojeve të ndryshme të infeksioneve që përfshijnë koket Gram-pozitive, shkopinjtë Gram-pozitiv (p.sh., *Listeria*), shumicën e anaerobeve dhe koket Gram-negative (p.sh., *Neisseria*). Specie të caktuara bakteriale kanë fituar rezistencë ndaj penicilinës, duke përfshirë enterokoket. Infeksionet e enterokokëve tani trajtohen me një kombinim të penicilinës dhe streptomycinës ose gentamicinës. Disa shkopinjë Gram-negativ janë gjithashtu rezistente ndaj penicilinës për shkak të aftësisë së dobët të penicilinës për të depërtuar në kanalin porin. Megjithatë, gjeneratat e mëvonshme të penicilinave me spektër të gjerë janë efektive edhe kundër shkopinjëve Gram-negativ (Yip & Gerriets, 2021). Aktualisht, penicilina dhe tetraciklinat mbeten antibiotikët më të përshkruar për përdorim në kafshë ushqimore (Van, Yidana, Smooker, & Coloe, 2020).

### 3. QËLLIMI I HULUMTIMIT

Marrë parasysh faktin se produktet e freskëta të mishit janë ushqime mjaft të përdorura në vendin tonë, është e rëndësishme të kemi informata të mjaftueshme mbi higjenën dhe sigurinë e këtyre produkteve. Meqë dihet se *Escherichia coli* është një patogjen i njohur me një varg pasojash në shëndetin e njeriut dhe që mund të ketë prejardhje nga ushqimi si dhe është ndër bakteriet më rezistente ndaj antibiotikëve, konsideroj se hulumtimi i prezencës dhe antibiotikorezistencës së *E. coli* në disa lloje të mishit të freskët të tregtuar në Kosovë, është mjaft i rëndësishëm si për industrinë e prodhimit të mishit ashtu edhe për shëndetin publik në vend.

Qëllimi kryesor i këtij hulumtimi është detektimi i prezencës dhe matja e ndjeshmërisë ndaj antibiotikëve (antibiotikorezistencës) së *E. coli* në disa produkte të mishit të pulës siç janë mish i bardhë i pulës (gjoks pule), mushkri dhe zemër pule si dhe mish i grirë i gjedhit të tregtuara në Kosovë. Përmes këtij studimi synohet të analizohet:

- Shfaqja e *E. coli* në produktet e freskëta të mishit të pulës siç janë mishi i bardhë i pulës dhe mushkri dhe zemër pule si dhe në mishin e grirë të gjedhit;
- Përcaktimi i antibiotikorezistencës në izolatet e *E. coli* me origjinë nga produktet e lartë përmëndura;
- Literatura dhe hulumtimet ndërkombëtare të realizuara në këtë fushë;
- Dhe krahasohen të dhënat e hulumtimit me studime të ngjashme;
- Dhe të jipen rekomandime të dalura nga ky hulumtim, të rëndësishme për hulumtimet e ardhshme në këtë fushë.

## 4. METODOLOGJIA E HULUMTIMIT

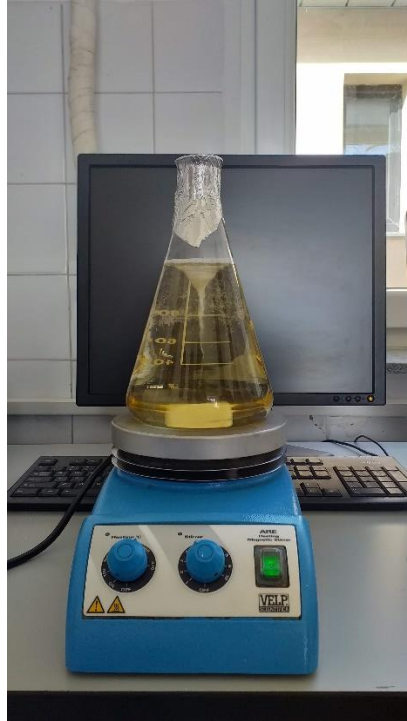
Hulumtimi është realizuar në Laboratorin e Mikrobiologjisë ushqimore në Institutin e Fakultetit të Bujqësisë dhe Veterinarisë. Mostrat janë marrë në treg (markete dhe mishtore) në 3 qytete të ndryshme të Kosovës, në Prishtinë, Fushë Kosovë dhe Gjiilan. Në analizim janë përfshirë produktet vendore dhe të importuara, të zgjedhura në mënyrë të rastësishme. Produktet që janë analizuar janë: **mish i grirë i gjedhit, gjoks pule si dhe mushkri dhe zemër pule**. Faza e parë e hulumtimit që përfshin izolimin e *E. coli* nga këto produkte është realizuar për gjatë muajve qershor - shtator të vitit 2021. Çdo muaj janë tesuar 8 mostra, në total 32 mostra. Nga këto 32 mostra të analizuara, 12 (37.5 %) janë vendore dhe 20 (62.5%) vijnë nga importi. Në fazën e dytë e cila është realizuar në nëntor të vitit 2021 është matur ndjeshmëria e këtyre izolateve ndaj 11 antibiotikëve të ndryshëm. Antibiotikët e përdorur u përkasin tetë klasave të ndryshme, siç janë: penicilinat, kinolonet, aminoglikozidet, tetraciklinat, furanet, makrolidet, glikopeptidet dhe oksazolidinonet. Analizat janë realizuar në bazë të National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS), USA. Në gjithsej 32 mostra të analizuara përfshihen:

- Mushkri dhe zemër pule 12 mostra
- Mish i bardhë (gjoks) pule 11 mostra
- Mish i grirë i gjedhit 9 mostra

### 4.1. Izolimi i *Escherichia coli*

Për izolimin e *E. coli* sipas Sistemit Kombëtar të Monitorimit të Rezistencës Antimikrobike (NARMS), përkatësisht Protokollit të laboratorit të mbikëqyrjes së mishit me pakicë nevojiten këto terrene ushqyese:

**Ujë pepton bufer (BPW)** – është tretësirë buferike që përmban përgjithësisht pepton - një proteinë e tretshme - e cila më pas sillet në një pH neutral (afërsisht 7.0) duke përdorur një fosfat dinatriumi bazë. Përdoret për detektimin e mikroorganizmave dhe përmirëson zbulimin e bakteve nga përbërësit e papërpunuar, produktet e gatshme dhe mostrat e marra nga mjedisi i përpunimit të ushqimit. Është një mjedis ideal për të ruajtur qëndrueshmërinë mikrobike dhe për të nxitur rritjen, veçanërisht me mostrat e marra nga sipërfaqet dhe karkasat, si dhe në fabrikat e përpunimit të shpendëve (Charm Sciences, 2019).



**Figura 1. Uji pepton bufer gjatë përgatitjes**

Përbërja kimike dhe vlera e pH-së së Ujit pepton bufer sipas Oxoid - Product Detail, 2017 (përkatësisht kompanisë prodhuese) është paraqitur në Tabelën 1.

**Tabla 1. Përbërja kimike dhe vlera e pH - së së Ujit pepton bufer**

Formula tipike	g/l
Peptone	10.0
Klorur natriumi	5.0
Dinatriumi fosfat	3.5
Dihidrogjen fosfat kaliumi	1.5
pH $7.2 \pm 0.2$ @ $25^{\circ}\text{C}$	

**MacConkey broth (MAC broth)** - është medium diferencial me ngjyrë të kuqe neutrale për detektimin e organizmave koliformë. Si përparësi e MacConkey Broth në testin e supozuar koliform mund të konsiderohet proporcioni i ulët i reaksioneve pozitive false dhe fakti se shumica e shtameve të *Escherichia coli* prodhojnë një reagim pozitiv brenda 24 orëve (Oxoid - Product Detail, 2021).



**Figura 2. MacConkey broth gjatë përgatitjes**

Përbërja kimike dhe vlera e pH-së së MacConkey broth sipas Oxoid - Product Detail, 2021 (përkatësisht kompanisë prodhuese) është paraqitur në Tabelën 2.

**Tabla 2. Përbërja kimike dhe vlera e pH-së së MacConkey broth**

Formula tipike	g/l
Peptone	20.0
Laktozë	10.0
Kripëra biliare	5.0
Klorur Natriumi	5.0
E kuqe neutrale	0.075
pH 7.4 ± 0.2	

**MacConkey Agar (MAC agar)** - është medium diferencial që shërben për detektimin, izolimin dhe numërimin e koliformëve dhe patogjenëve të zorrëve në ujë, produkte të qumështit dhe mostra biologjike. MacConkey Agar është medium i rekomanduar nga Organizata Botërore e Shëndetit, Departamenti i Shëndetit, dhe nga Windle Taylor për ekzaminimin bakteriologjik të ujit. Edhe pse përdoret kryesisht për koliformet, ky medium mund të përdoret gjithashtu për diferencimin e baktereve të tjera enterike, përfshirë patogjenët dhe është i përshtatshëm për diferencimin e specieve *Pasteurella* (Oxoid - Product Detail, 2021).



**Figura 3. MacConkey agar në ambalazhë, dhe MacConkey agar në pjatë Petri, gati për përdorim**

Përbërja kimike dhe vlera e pH-së së MacConkey agar sipas Oxoid - Product Detail, 2021 (përkatesisht kompanisë prodhuese) është paraqitur në Tabelën 3.

**Tabla 3. Përbërja kimike dhe vlera e pH-së së MacConkey agar**

<b>Formula tipike</b>	<b>g/l</b>
Peptone	20.0
Laktozë	10.0
Kripëra biliare	5.0
Klorur Natriumi	5.0
E kuqe neutrale	0.075
Agar	12.0
pH 7.4 ± 0.2	

Terrenet dhe bujonet përgatiten në mënyrë sterile sipas udhëzimeve të dhëna në ambalazh nga prodhuesi përkatës. Ruhen në frigorifer për një deri në dy javë.

### 4.1.1 Procedura e Izolimit të *Escherichia coli*

**Dita 1.** Bujonet dhe terrenet ushqyese janë sjellur në temperaturë dhome para inokulimit për përdorim. Në mënyrë aseptike janë peshuar **50 g mostër** dhe janë vendosur në qese Stomacher sterile. Pastaj në qese janë shtuar **250 ml ujë pepton bufer**.



**Figura 4. 50g mostër + 250 ml ujë pepton bufer në qese Stomacher**

Kjo përzierje, është përzier në homogjenizator (Stomacher) për 90 sekonda. Në mënyrë aseptike janë transferuar 50 ml nga përzierja (ujë pepton bufer + mostër) nga qesja në një qese të veçantë sterile e cila më parë është shënuar më kodin e mostrës përkatëse. Në këtë qese janë shtuar 50 ml bujon MacConkey me fortësi të dyfishtë, janë përzier sërish në homogjenizator pastaj mostra është inkubuar në temperaturë 35 °C për 24 orë.



**Figura 5. Mostra e homogenizuar në Stomacher**



**Figura 6. 50 ml nga përzierja mostër + BPW pasi i është shtuar 50 ml MAC broth (mostra e gatshme për inkubim)**

**Dita 2.** Nga qesja me MacConkey broth është marr mostër me anë të sterilit dhe është bërë shtrirja në pjatë Petri me terren ushqyes MacConkey agar e cila më parë është shënuar me kodin e mostrës përkatëse. Pjatat janë inkubuar në temperaturë 35 °C për 24 orë.





**Figura 7. Shtrirja e mostrës me anë nga MAC broth në MAC agar**

**Dita 3.** Secila pjatë MAC është kontrolluar për koloni tipike *E. coli* (koloni ngjyrë rozë). Nëse nuk vërehet ndonjë rritje tipike në pjatën e agarit MAC, mostra është negative dhe mund të hidhet poshtë, nëse ekzistojne koloni tipike të izoluara mirë mund më vazhdohet me teste tjera konfirmuese. Në këtë rast mostra ka rezultuar pozitive dhe është vazhduar me teste tjera konfirmuese.

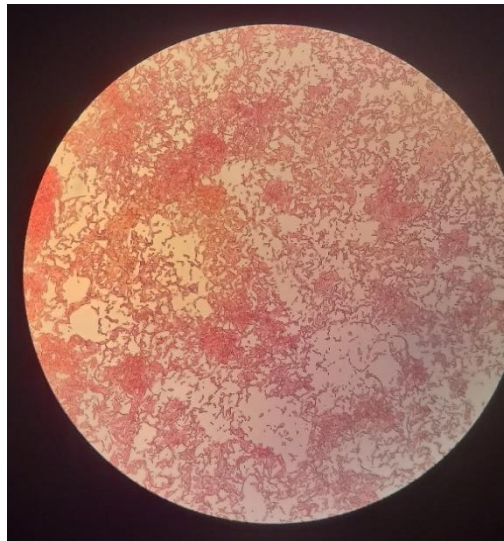


**Figura 8. Kolonitë e *E. coli* në MAC agar**

### 4.1.2. Testet konfirmuese

Testet konfirmuese të cilat janë realizuar për konfirmimin e kolonive të izoluara të *E.coli* janë ngjyrosja sipas Gramit dhe testi i oksidazës.

**Ngjyrosja sipas Gramit** - është thelbësore për karakterizimin fenotipik të bakterieve. Procedura e ngjyrosjes diferencon bakteriet sipas strukturës së murit qelizor. Bakteriet Gram-pozitive kanë një shtresë të trashë peptidoglikane dhe marrin ngjyra nga blu në vjollcë. Bakteriet Gram-negative kanë një shtresë të hollë peptidoglikane dhe marrin ngjyra nga e kuqe në rozë. Performanca e ngjyrosjes sipas Gramit në çdo mostër kërkon katër hapa bazë që përfshijnë aplikimin e një ngjyre primare (crystal violet) në xham mikroskopik ku fillimisht është vendosur një koloni dhe është fiksuar në nxehtësi, e ndjekur nga shtimi i një mordanti (Jodi Gram), çngjyrosje e shpejtë me alkool, aceton ose një përzierje e alkoolit dhe acetonit dhe së fundi, kundërngjyrosje me safraninë (Smith & Hussey, 2019). Mostra është vëzhguar në mikroskop për të vërejtur ngjyrën dhe format tipike për bakterien.

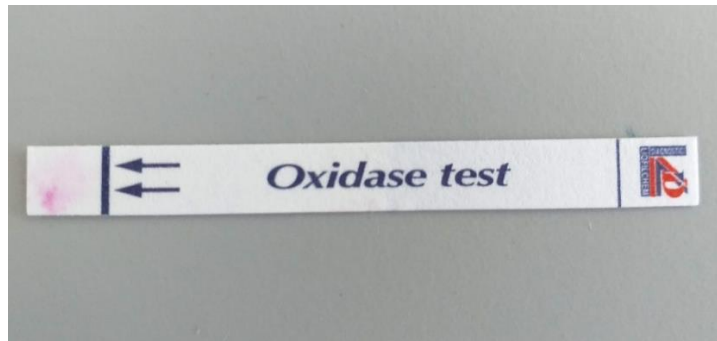


**Figura 9. Vrojtimi i *E. coli* në mikroskop**

**Testi i oksidazës** është një reaksion biokimik që analizon praninë e citokrom oksidazës, një enzimë e quajtur ndonjëherë oksidazë indofenol. Në prani të një organizmi që përmban enzimën citokrom oksidazë, reagjenti pa ngjyrë i reduktuar bëhet një produkt me ngjyrë të oksiduar (Shields & Cathcart, 2010). Procedura e performimit të testit të oksidazës përfshiu:

1. Janë shpërndarë një deri në dy pika të reagjentit në një rrip letre filtri Whatman (No. 1) (ose një ekuivalente).
2. Duke përdorur një anzë sterile është vendosur nje koloni e izoluar afërsisht para 18 - 24 orësh në strip.
3. Është bërë vëzhgimi i ndryshimit të ngjyrës për 10 - 30 sekonda.

**Test pozitiv** - Zhvillimi i ngjyrës vjollcë brenda 10 - 30 sekondave. **Testi negativ** - Reagimi i vonuar ose mungesa e zhvillimit të ngjyrës brenda 10 - 30 sekondave (Remel, 2020).

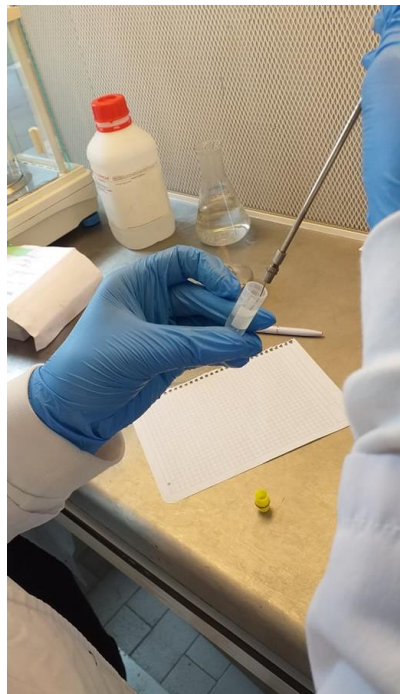


**Figura 10. Testi i oksidazës**

**Ngrirja e izolateve** - pas realizimit të këtyre testeve izolatet e mostrave që kanë rezultuar *E. coli* pozitive janë ngrirë. Ngrirja është një mënyrë e mirë për t'i ruajtur bakteret. Në përgjithësi, sa më e ftohtë të jetë temperatura e ruajtjes, aq më gjatë kultura do të mbajë qelizat e qëndrueshme (A Guide to Bacteria Preservation, 2021). Në kushte sterile, janë marrë 8 ml ujë i destiluar i autoklavizuar në 121 °C për 15 minuta dhe janë vendosur në një epruvetë. Në epruvetë janë shtuar edhe 2 ml glicerol. Janë përzier në vortex. Me pipetë janë marrë 1.5 ml nga kjo përzierje dhe janë vendosur në kriotubë 1.6 ml. Në kushte sterile është marrë kolonia pozitive e *E. coli* dhe është vendosur në kriotub. Kriotubat janë shënuar me kodet e mostrave përkatëse dhe janë vendosur në ngrirje te thellë për ruajtje.



**Figura 11. Përgatitja e përzierjes ujë i destiluar + glicerol (përzierja në vortex)**



**Figura 12. Vendosja e kolonisë në kriotub**

#### **4.2. Testimi i ndjeshmërisë antimikrobike**

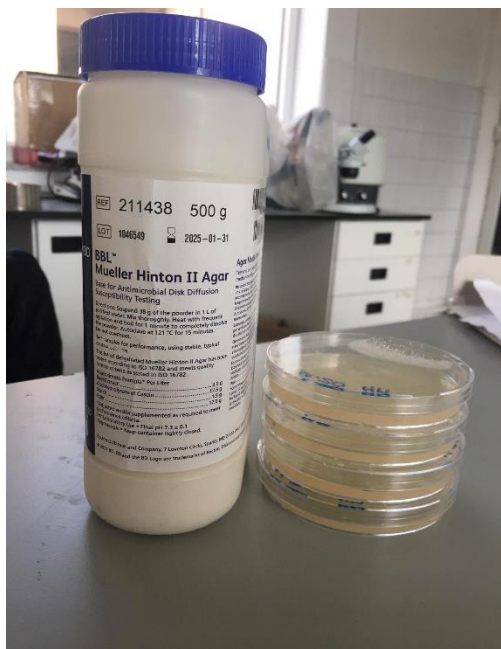
Kryerja e testit të ndjeshmërisë antimikrobiale (AST) të patogjenëve bakterialë është e rëndësishme për të përcaktuar ndjeshmërinë ndaj agentëve antimikrobikë dhe për të zbuluar rezistencën e mundshme ndaj ilaçeve në laboratorët e mikrobiologjisë klinike (Benkova, Soukup,

& Marek, 2020). Ekzistojnë metoda të ndryshme të përcaktimit të ndjeshmërisë antimikrobike të patogjenëve bakterial, për qëllime të këtij hulumtimi është përdorur metoda Kirby Bauer.

#### 4.2.1. Metoda Kirby Bauer

Qëllimi i testit të ndjeshmërisë së difuzionit të diskut Kirby-Bauer është të përcaktojë ndjeshmërinë ose rezistencën e bakteve patogjene aerobe dhe anaerobe fakultative ndaj komponimeve të ndryshme antimikrobike (Hudzicki, 2009). Për përcaktimin e ndjeshmërisë së bakteve ndaj antibiotikëve sipas kësaj metode është përdorur terreni ushqyes Muller Hinton agar, si dhe uji pepton bufer.

**Mueller-Hinton agar** është një medium jo selektiv, jo diferencial, i aftë për të rritur një gamë të gjerë organizmash. Konsiderohet si një agar "i lirshëm", i cili ndihmon në ndërmjetësimin e shkallës së difuzionit të antibiotikut në mënyrë më efektive se llojet e tjera të terreneve ushqyese (Elges, 2020).



**Figura 13. Mueller-Hinton agar në ambalazhë, dhe Mueller-Hinton agar në pjatë Petri, gati për përdorim**

Përbërja kimike dhe vlera e pH-së së Mueller-Hinton agar është paraqitur në Tabelën 4.

**Tabla 4. Përbërja kimike dhe vlera e pH-së së Mueller-Hinton agar**

<b>Formula e përafërt</b>	<b>g/l</b>
Ekstrakt i mishit të viçit	2.0
Hidrolizat acid i kazeinës	17.5
Amidon	1.5
Agar	17.0
pH 7.3 ±0.1	

Terreni është përgatitur në mënyrë sterile sipas udhëzimeve të dhëna në ambalazh nga prodhuesi përkatës.

Për testuar rezstencën e izolateve të *E. coli* janë përdorur disqe antibiotikësh 6 mm të 11 llojeve të ndryshme të antibiotikëve që janë:

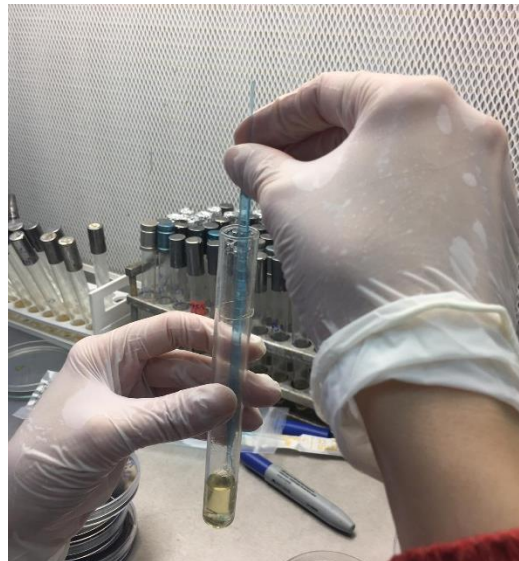
1. Nalidixic Acid (NA) – 30 µg
2. Linezolid (Lnz) – 10 µg
3. Vancomycin (V) – 30 µg
4. Erythromycin (E) – 15 µg
5. Tetracycline (Te) – 30 µg
6. Gentamicin (CN) – 10 µg
7. Chloramphenicol (C) – 30 µg
8. Doxycycline (Dxt) – 30 µg
9. Streptomycin (S) – 10 µg
10. Nitrofurantoin (F) – 300 µg
11. Penicillin (P) – 10 µg



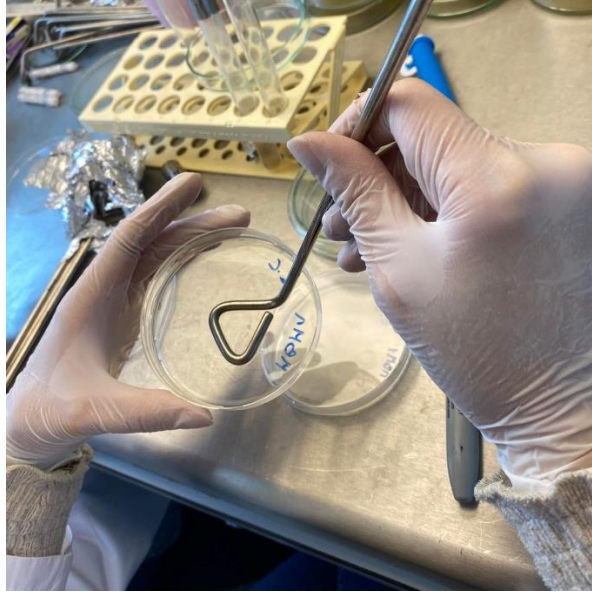
**Figura 14. Disqet e antibiotikëve të përdorur**

**Dita 1.** Mostrat e ngrira në kriotuba janë shkrirë, shtrirë në pjata petri me MacConkey Agar dhe janë inkubuar në temperaturë 35 °C për 24 orë.

**Dita 2.** Nga pjatat me MacConkey agar janë prekuar tri deri në pesë koloni të *E. coli* me anë të sterile dhe janë vendosur në një epruvetë që përmban 4 ml ujë pëpton bufer. Kjo epruvetë është përzier në vortex, pastaj nga kjo përzierje me pipetë janë marrë 0.1 ml dhe janë vendosur në Mueller-Hinton agar, janë shtrirë me shkop Drigalski në mënyrë sa më uniforme.



**Figura 15. Vendosja e kolonive në epruvete me 4 ml ujë pëpton bufer**



**Figura 16. Shtrirja e 0.1 ml nga BPW e inokuluar me *E.coli*, me shkop Drigalski në MH agar**

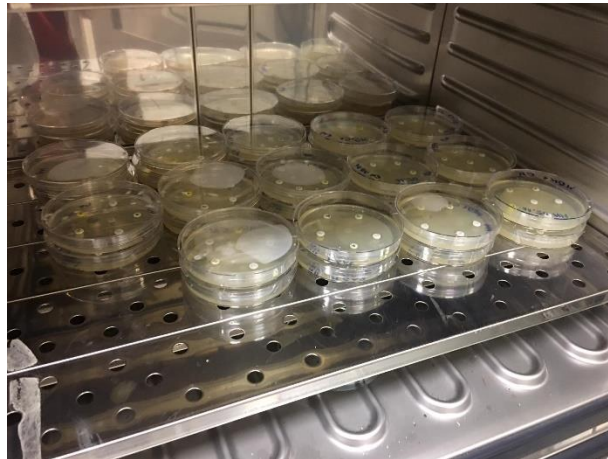
**Vendosja e disqeve të antibiotikëve** – disqet e antibiotikëve janë vendosur në sipërfaqen e agarit, duke përdorur pincë sterile për ta shpërndarë çdo disk antimikrobik një nga një. Disqet nuk janë vendosur më afër se 24 mm (qendra në qendër) në pllakën e agarit MH. Është shmangur vendosja e disqeve pranë skajit të pjatës pasi zonat nuk krijohen plotësisht të rumbullakëta dhe mund të jenë të vështira për t'u matur. Çdo disk është shtypur me pincë për të siguruar kontakt të plotë me sipërfaqen e agarit, përndryshe mund të ishin shfaqur forma të parregullta të zonës së inhibimit.



**Figura 17. Vendosja e disqeve të antibiotikëve ne MH agar**



Pasi janë vendosur të gjithë disqet e antibiotikëve në pjatat me Muller-Hinton Agar, janë inkubuar në temperaturë  $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  për 16 – 18 orë.

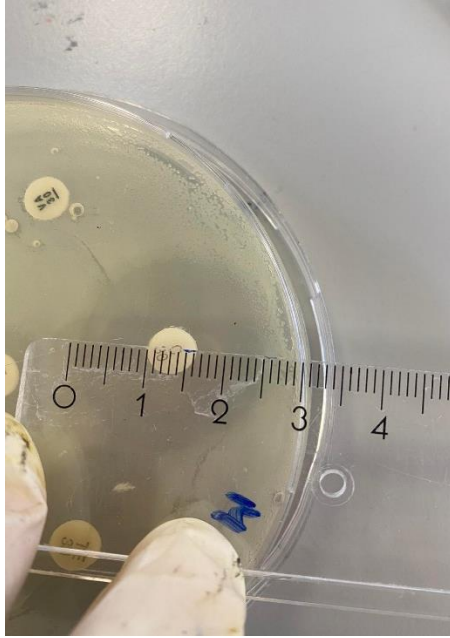


**Figura 18. Mostrat në inkubator**

**Dita 3.** Pas inkubimit, janë matur madhësitë e zones së inhibimit në milimetrin më të afërt duke përdorur një vizore.



**Figura 19. Zona e inhibimit**



**Figura 20. Matja e zonës së inhibimit**

## 5. REZULTATET

### 5.1. Rezultatet e shfaqjes së *Escherichia coli*

Pas performimit të testeve konfirmuese (ngjyrosja sipas Gramit dhe test i oksidazës) nga gjithsej 32 mostra të analizuara, 26 rezultuan pozitive me *E. coli*. Nga grupet e mostrave të analizuara pozitive me *E. coli* ishin 10 mostra mushkri dhe zemër pule, 8 mostra mish i bardhë (gjoks) pule dhe 9 mostra mish i grirë gjedhi. Më poshtë është dhënë tabela me rezultatet e testeve për të gjitha mostrat.

Tabla 5. Rezultatet e shfaqjes së *E. coli* në mostrat e analizuara

Nr.	Mostra	Gram Testi	Test i Oksidazës	Rez. Përfundimtar
1	KMBZ1	-	-	+
2	KMZ1	-	-	+
3	GMB1	-	-	+
4	MBK1	-	-	+
5	MBC1	-	-	+
6	ME1	-	-	+
7	MGE1	-	-	+
8	MC1	-	-	+
9	MP1	+	+	-
10	MGB1	-	-	+
11	MBF1	+	-	-
12	MBM1	-	-	+
13	MBP1	-	+	-
14	BMG1	-	-	+
15	MGA1	-	-	+
16	MB1	-	-	+
17	MGH1	-	-	+
18	MGM1	-	-	+
19	KMBZ2	-	-	+
20	MBFS1	+	-	-
21	MGA2	-	-	+

22	MBC2	+	-	-
23	MBO1	-	-	+
24	BMG2	-	-	+
25	MGE2	-	-	+
26	MGB2	-	-	+
27	MPL1	-	-	+
28	MPO1	-	-	-
29	MPLE1	-	-	+
30	MPS1	-	-	+
31	MBS1	-	-	+
32	MPF1	-	-	+

\* KMBZ1, KMB1, GMB1,... janë akronime (kode) që përfaqësojnë mostrat përkatëse.

## 5.2. Rezultatet e ndjeshmërisë së izolateve të *Escherichia coli* ndaj antibiotikëve (Antibiotikorezistenca)

Zonat e inhibimit të matura në milimetra (mm) për secilën mostër dhe secilin antibiotik janë interpretuar duke përdorur udhëzimet e publikuara të Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) në vitin 2020, dhe është përcaktuar ndjeshmëria ose rezistenca e organizmit ndaj çdo antibiotiku të testuar. Në bazë të këtij udhëzimi, varësisht nga madhësia e zonës së inhibimit organizmat konsiderohen si:

- **të ndjeshëm (Susceptible – S)** – rezultati ky që tregon se organizmi duhet t'i përgjigjet terapisë me atë antibiotik duke përdorur dozën e rekomanduar normalisht për atë lloj infeksioni dhe specie;
- **të ndërmjetëm (Intermediate – I)** – një rezultat i tillë tregon se mikroorganizmi bie në një gamë të ndjeshmërisë në të cilën përqendrimi frenues minimal i afrohet ose tejkalon nivelin e antibiotikut që zakonisht mund të arrihet dhe për të cilin përgjigja klinike ka të ngjarë të jetë më e vogël se sa me një shtam të ndjeshëm;
- ose **rezistent (Resistant – R)** – rezultati i interpretuar si "rezistent" tregon që organizmi nuk duhet të frenohet nga përqendrimet e antibiotikut të arritur me dozat e përdorura normalisht me atë ilaç (Jorgensen & Ferraro, 2009).

Më poshtë janë dhënë 2 tabela me rezultatet e ndjeshmërisë së izolateve të *E. coli* ndaj antibiotikëve të testuar të shprehura si R, I dhe S (tabela 6) dhe të shprehura në përqindje për mostrat të ndara në dy grupe në bazë të origjinës dhe për të gjitha mostrat (tabela 7).

**Tabla 6. Rezultatet e ndjeshmërisë së izolateve të *E. coli* të testuara ndaj antibiotikëve**

Nr.	Antibiotiku	NA	LNZ	VA	E	TE	CN	DXT	S	F	P	C
	Mostra											
1	GMB1	S	R	-	S	S	-	S	S	S	R	S
2	KMZ1	S	R	-	S	R	-	S	R	S	R	S
3	KMBZ1	S	R	-	S	S	-	S	R	S	R	R
4	MBK1	I	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
5	MGE1	S	R	-	S	R	-	I	S	S	R	S
6	MGA1	I	R	-	R	R	-	R	R	R	R	I
7	MP1	S	R	R	S	S	S	I	S	S	R	S
8	MC1	I	R	-	R	R	-	R	I	I	R	S
9	BMG1	S	I	-	S	S	-	S	I	I	R	S
10	MBM1	S	R	-	R	S	-	S	S	S	R	S
11	ME1	I	R	-	S	R	-	R	I	R	R	I
12	MBC1	I	R	-	R	S	-	R	S	R	R	S
13	MB1	I	R	-	R	R	-	S	S	I	R	S
14	MPL1	R	R	R	R	R	R	I	R	S	R	R
15	MGA2	S	R	-	R	S	-	S	S	S	R	S
16	MGB2	R	R	S	S	R	S	R	S	S	R	S
17	MPLE1	R	S	-	R	R	-	R	R	S	R	S
18	MPS1	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S
19	MBO1	S	R	-	S	S	-	S	R	S	R	S
20	MPF1	R	R	-	R	S	-	S	I	S	R	S
21	MGM1	S	R	-	R	S	-	R	R	I	R	S
22	MGE2	S	R	-	R	S	R	R	R	R	R	I
23	MBS1	S	R	-	R	S	-	S	S	R	R	S
24	KMBZ2	S	R	-	R	S	S	S	S	S	R	S
25	BMG2	S	R	-	R	S	-	S	I	I	R	S
26	MGH1	S	R	-	S	S	-	R	S	S	R	S

\*NA, LNZ, VA, E, TE, CN, DXT, S, F, P dhe C janë akronimet e antibiotikëve të përdorur emrat e plotë të së cilëve janë dhënë në pjesën e materialit dhe metodave.

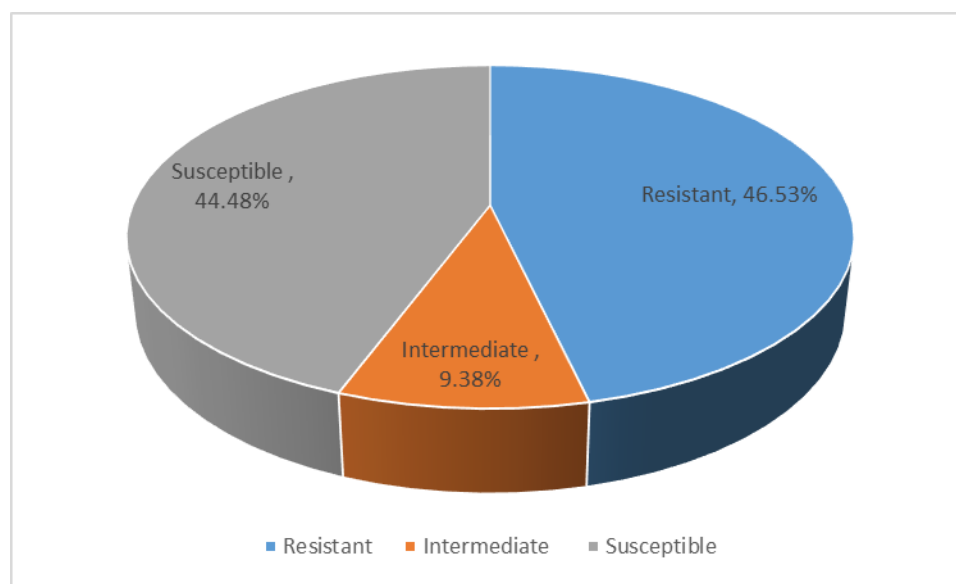
\*Me Vancomycin (VA) dhe Gentamicin (CN) janë testuar vetëm disa prej izolateve për shkak të mungesës së disqeve.

**Tabla 7. Rezultatet e ndjeshmërisë së izolateve të *E. coli* të testuara ndaj antibiotikëve, të shprehura në përqindje për mostrat të ndara në dy grupe në bazë të origjinës dhe për të gjitha mostrat**

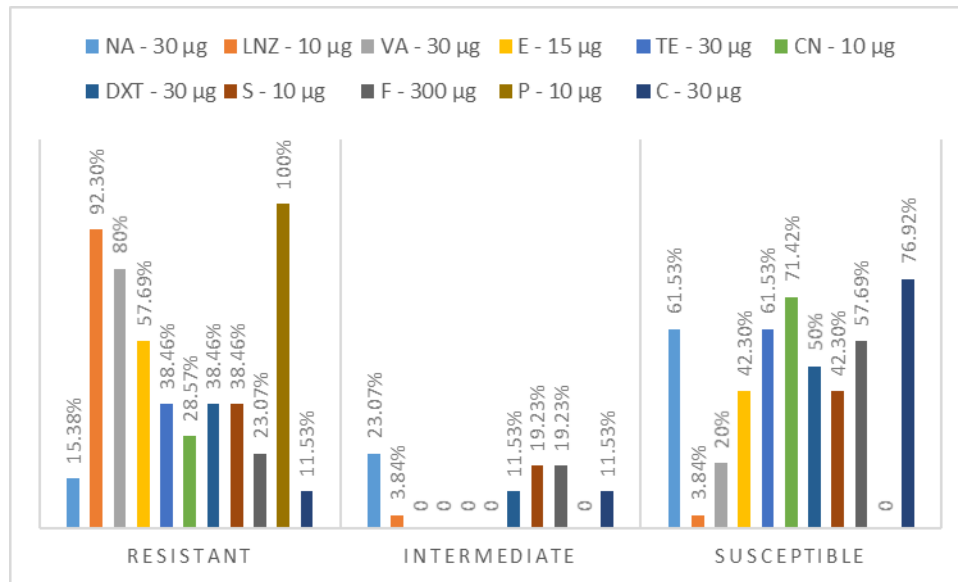
Nr.	Antibiotikët	Rez.	Mostrat me origjinë nga mish i gjedhit	Mostrat me origjinë nga mish i pulës	Të gjitha mostrat
1.	Acidi Nalidiksik/ (NA – 30 µg)	R	/	23.52%	15.38%
		I	11.11%	29.41%	23.07%
		S	88.88%	47.05%	61.53%
2.	Linezolidi (LNZ – 10 µg)	R	88.88%	94.11%	92.30%
		I	11.11%	/	3.84%
		S	/	5.88 %	3.84%
3.	Vankomicina (VA - 30 µg)	R	-	80%	80%
		I	-	/	/
		S	-	20%	20%
4.	Eritromicina (E - 15 µg)	R	55.55%	58.82%	57.69%
		I	/	/	/
		S	44.44%	41.17%	42.30%
5.	Tetraciklina (TE - 30 µg)	R	22.22%	47.05%	38.46%
		I	/	/	/
		S	77.77%	52.94%	61.53%
6.	Gentamicina (CN – 10 µg)	R	100%	16.66%	28.57%
		I	/	/	/
		S	/	83.33%	71.42%
7.	Doksociklina (DXT - 30 µg)	R	44.44%	35.29%	38.46%
		I	11.11%	11.76%	11.53%
		S	44.44%	52.94%	50%
8.	Streptomicina (S - 10 µg)	R	33.33%	41.17%	38.46%
		I	22.22%	17.64%	19.23%
		S	44.44%	41.17%	42.30%
9.	Nitrofurantioni	R	22.22%	23.52%	23.07%

	<b>(F - 300 µg)</b>	<b>I</b>	33.33%	11.76%	19.23%
		<b>S</b>	44.44%	64.70%	57.69%
<b>10.</b>	<b>Penicilina (P - 10 µg)</b>	<b>R</b>	100%	100%	100%
		<b>I</b>	/	/	/
		<b>S</b>	/	/	/
<b>11.</b>	<b>Kloramfenikoli (C - 30 µg)</b>	<b>R</b>	/	17.64%	11.53%
		<b>I</b>	22.22%	5.88%	11.53%
		<b>S</b>	77.77%	76.47%	76.92%

Në vazhdim janë paraqitur në mënyrë grafike rezultatet e ndjeshmërisë së të gjitha izolateve të *E. coli* të testuara ndaj të gjithë antibiotikëve në përgjithësi. Dhe në një tjetër grafik janë paraqitur rezultatet e ndjeshmërisë së të gjitha izolateve të *E. coli* të testuara ndaj të gjithë antibiotikëve veç e veç.



**Figura 21. Ndjeshmëria e përgjithshme e izolateve të *E. coli* ndaj të gjithë antibiotikëve, shprehur në përqindje.**



**Figura 22. Ndjeshmëria e përgjithshme e izolateve të *E. coli* ndaj antibiotikëve, e izoluar nga mishi i grirë i gjedhit, mishi i bardhë i pulës dhe mushkrittë dhe zemra e pulës**



## 6. DISKUTIMET

Qëllimi i këtij studimi ishte detektimi i prezencës dhe antibiotikorezistencës së *E. coli* në disa produkte të mishit të pulës siç janë mish i bardhë i pulës (gjoks pule), mushkri dhe zemër pule si dhe mish i grirë i gjedhit të tregtuara në Kosovë.

Nga 32 mostra të analizuar që janë: mish i bardhë (gjoks) pule, mushkri dhe zemër pule dhe mishit i grirë i gjedhit, 26 (81.25%) rezultuan *E. coli* pozitive. Nga këto 72.72% (8 nga 11) ishin mish i bardhë pule, 83.33% (10 nga 12) mushkri dhe zemër pule dhe 100% (9 nga 9) mish i grirë i gjedhit (Tabela 5). Prevalenca kaq e lartë e *E. coli* në këto produkte mund të arsyetohet deri diku nga fakti se të gjitha mostrat e analizuar kanë qenë të freskëta (të papërpunuara termikisht), dhe se nuk janë bërë analiza të mëtejshme për të konfirmim të patogjenitetit të shtameve të izoluar. Siç është përmendur edhe më herët *E. coli* nuk u reziston temperaturave të larta, ato zakonisht shkatërrohen plotësisht në temperaturë 70 °C. Sidoqoftë prania e *E. coli* në produkte të papërpunuara është shqetësuese sepse paraqet rrezik të kontaminimit të kryqëzuar të produkteve të tjera ushqimore të cilat nuk trajtohen termikisht para përdorimit dhe në një formë apo tjetër mund të shkaktoj pasoja tek konsumatorët. Prania e shtameve patogjene të *E. coli* në mish nuk është vetëm një kërcënim potencial i kontaminimit të kryqëzuar, por gjithashtu mund të çojë në një dozë infektive për përpunuesit dhe konsumatorët. Gjithashtu prania e *E. coli* në produkte ushqimore konsiderohet të jetë një tregues për praninë e baktereve të tjera patogjene në artikujt ushqimorë përkatës (Shar et al., 2010). Në studimin e realizuar nga Adzitey, Huda, & Shariff në Ganë në vitin 2021, nga 200 mostra të analizuar të mishit, 38% kanë qenë pozitive për *E. coli*. Në mënyrë të dukshme, prevalenca e *E. coli* ka qenë më e larta në mishin e gjedhit të papërpunuar (80%). Kjo në përputhje me rezultatet e hulumtimit tone ku prevalenca më e lartë e *E. coli* në mishin e grirë të gjedhit është 100%.

Nga numri i përgjithshëm i izolateve të testuara (26) ndaj 11 antibiotikëve 46.53% kanë rezultuar rezistente (R), 44.48% kanë rezultuar të ndjeshme dhe 9.38% dhe kanë rezultuar të ndërmjetme (I) (Figura 21).

Nga 26 izolate të *E. coli* të karakterizuara në këtë studim, të gjitha kanë shfaqur rezistencë ndaj dy ose më shumë klasave të antibiotikëve. Në përgjithësi, **rezistenca** më e lartë u zbulua te penicilina (100%), e ndjekur nga linezolid (92.30%), vankomicina (80%), eritromicina (57.69%),

tetraciklina, doksociklina dhe streptomocina (38.46%), gentamicina (28.57%), nitrofurantioni (23.07%), acidi nalidiksik (15.38%) dhe kloramfenikoli (11.53%). Në të kundërtën **ndjeshmëria** më e lartë u zbulua tek kloramfenikoli (76.92%) e ndjekur nga gentamicina (71.42%), acidi nalidiksik dhe tetraciklina (61.53%), nitrofurantioni (57.69%), doksociklina (50%), eritromicina dhe streptomocina (42.30%), dhe linezolid (3.84%). Ndërsa të **ndërmjetme** (intermediare) ishin acidi nalidiksik (23.07%) pasuar nga streptomocina dhe nitrofurantioni (19.23%), doksociklina dhe kloramfenikoli (11.53%) dhe linezolidi (3.84%) (Figura 22).

Hulumtimi i realizuar nga Adzitey, Huda, & Shariff në vitin 2021, përveç tjerash ka analizuar edhe ndjeshmërinë ndaj antibiotikëve. Të rëndësishme dhe të krahasueshme me hulumtimin tonë janë këto rezultate: Nga 45 izolate të *E.coli* 50% kanë qenë rezistente në amiksocilinë dhe tetraciklinë. Në rastin tonë për dallim nga hulumtimi i mësipërm nga klasa e penicilinave është përdorur penicilina, ku rezistenca ka qenë dukshëm më e lartë. Kjo mund të vij nga fakti që antibiotiku i përdorur edhe pse i takon klasës së njejtë, shfaq dallime në rezistencë. Në anën tjetër rezistenca ndaj tetraciklinës në studimin tonë është 38.46%, që është vlerë më e ulët por dukshëm më e afërt me hulumtimin në fjalë, në krahasim me penicilinën. Në këtë hulumtim 81.3% e izolateve të *E. coli* kanë rezultuar të ndjeshme ndaj kloramfenikolit, përqindje kjo e ngjashme me rezultatin e hulumtimit tonë që ishte 76.92%. Ndërsa ndjeshmëria e gentamicinës në hulumtimin tonë ka rezultuar 71.42%, pothuajse e njejtën me hulumtimin e Adzitey me bashkëpunorët (2021), ku përqindja ndjeshmërisë ishte 72.0%.

Ndryshimet në përqindje të hulumtimit tonë me hulumtimin në fjalë mund të jenë si pasojë e disa faktorëve, siç janë: ndryshimi në numër të mostrës, ku mostra jonë është dukshëm më e vogël; politikat potencialisht të ndryshme të administrimit të antibiotikëve në Ganë krahasuar me vendin tone.

Nëse krahasohet ndjeshmëria ndaj antibiotikëve për grupet e mostrave sipas origjinës (Tabela 7) vërehet se në shumicën e rasteve rezultatet janë të ngjashme përveç në rastin e gentamicinës për të cilën mostrat me origjinë nga mishi i gjedhit kanë treguar rezistencë (100%) ndërsa mostrat me origjinë nga mishi i pulës kanë qenë kryesisht të ndjeshme (83.33%). Këto rezultatet gjithashtu mund të jenë ndikuar nga numri i ndryshëm i izolateve të testuara nga grupet përkatëse të mostrave prej të cilave 18 kanë qenë me origjinë nga mishi i pulës (10 mostra mushkri

dhe zemër pule, 8 mostra mish i bardhë pule) dhe 9 me origjinë nga mishi i gjedhit (9 mostra mish i grirë gjedhi).

Rezultatet e këtij hulumtimi mund të jenë ndikuar nga numri i vogël i mostrave, nga mungesa e antibiotikëve të më shumë klasave, përdorimi i antibiotikëve nga klasa jo specifiku të rekomanduara për *E. coli* etj.

## 7. PËRFUNDIMET

Në të gjithë botën, rezistenca ndaj antibiotikëve zbulohet zakonisht midis baktereve në produktet e mishit duke ngritur pyetje të rëndësishme mbi ndikimin e mundshëm të përdorimit të antibiotikëve në kafshë dhe transmetimi i mundshëm i këtyre baktereve rezistente te njerëzit nëpërmjet zinxhirit ushqimor. Rezultati kryesor nga ky studim është si në vijim:

- Nga 32 mostra të analizuar 26 rezultuan pozitive me *E. coli* prej tyre 14 ishin të importuara dhe 12 vendore.

Nga rezultatet e ndjeshmërisë ndaj antibiotikëve nga 26 izolatet e *E. coli* pozitive të testuara për 11 lloje të ndryshme të antibiotikëve, mund të përfundojmë se

- 46.53% kanë rezultuar rezistente (R) kryesisht në penicillin, linezolid, vankomicinë dhe eritromicinë
- 44.48% kanë rezultuar të ndjeshme kryesisht në kloramfenikol, gentamicinë, acid nalidiksik, tetraciklinë, nitrofurantion dhe doksociklinë dhe
- 9.38% dhe kanë rezultuar të ndërmjetme (I) kryesisht në acidi nalidiksik, streptomycinë dhe nitrofurantoin.

Prevalenca kaq e lartë e *E. coli* në produktet e mishit mund të konsiderohet shqetësuese për shëndetin publik në vend. Rezistenca e lartë në disa nga antibiotikët e analizuar konsideroj se është çështje e rëndësishme për diskutim nga autoritetet përgjegjëse për shëndetin publik në vend, kjo pasi që patogjenët rezistent ndaj antibiotikëve mund të jenë shkaktarë të sëmundjeve vështirë të trajtueshme me antibiotikë.

Për hulumtimet e ardhshme në këtë fushë sugjerojmë përdorimin e një mostre më të madhe, për rezultate me gjithpërfshirëse; testim ndaj më klasave të ndryshme të antibiotikëve të rekomanduara për testim ndaj *E. coli*.

## 8. REFERENCAT

1. A *Guide to Bacteria Preservation*. (2021). OPS Diagnostics LLC. <https://opsdiagnostics.com/notes/ranpri/aguidetobacteriapreservation.htm>
2. Adzitey, F., Huda, N., & Shariff, A. H. M. (2021). Phenotypic Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* from Raw Meats, Ready-to-Eat Meats, and Their Related Samples in One Health Context. *Microorganisms*, 9(2), 326. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020326>
3. Anonymous. (2018, September 17). *Gentamicin - European Medicines Agency*. European Medicines Agency. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/referrals/gentamicin>
4. Araby, E., Nada, H. G., Abou El-Nour, S. A., & Hammad, A. (2020). Detection of tetracycline and streptomycin in beef tissues using Charm II, isolation of relevant resistant bacteria and control their resistance by gamma radiation. *BMC Microbiology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01868-7>
5. Batt, C. A. (2014). *Escherichia coli*. In Batt, C. A., & Tortorello, M. L., (Eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology* (2<sup>nd</sup> ed., pp. 688 – 694). London. Elsevier, Ltd.
6. Benkova, M., Soukup, O., & Marek, J. (2020). Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 806–822. <https://doi.org/10.1111/jam.14704>
7. Besser, T. E., Schmidt, E.C., Shah, D. H., Shringi, S. (2015). “Preharvest” Food Safety for *Escherichia coli* O157 and Other Pathogenic Shiga Toxin-Producing Strains. In Sperandio, V., & Hovde, C. J. (Eds.). *Enterohemorrhagic Escherichia coli and Other Shiga Toxin-Producing E. coli*. Washington, DC: American Society for Microbiology. ASM Press.
8. Browne, A. J., Chipeta, M. G., Haines-Woodhouse, G., Kumaran, E. P. A., Hamadani, B. H. K., Zaraa, S., Henry, N. J., Deshpande, A., Reiner, R. C., Day, N. P. J., Lopez, A. D., Dunachie, S., Moore, C. E., Stergachis, A., Hay, S. I., & Dolecek, C. (2021). Global antibiotic consumption and usage in humans, 2000–18: a spatial modelling study. *The Lancet Planetary Health*. [https://doi.org/10.1016/s2542-5196\(21\)00280-1](https://doi.org/10.1016/s2542-5196(21)00280-1)
9. Brüssow, H. (2014). Enteroaggregative *E. coli*. In Batt, C. A., & Tortorello, M. L., (Eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology* (2<sup>nd</sup> ed., pp. 706 – 712). London. Elsevier, Ltd.

10. CDC. (2021, October 26). *Antibiotic Resistance, Food, and Food Animals*. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/foodsafety/challenges/antibiotic-resistance.html>
11. Center for Food Safety and Applied Nutrition. (2021). *Outbreaks of Foodborne Illness*. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/food/recalls-outbreaks-emergencies/outbreaks-foodborne-illness>
12. Chagnot, C., Venien, A., Renier, S., Caccia, N., Talon, R., Astruc, T., & Desvaux, M. (2017). Colonisation of Meat by *Escherichia coli* O157:H7: Investigating Bacterial Tropism with Respect to the Different Types of Skeletal Muscles, Subtypes of Myofibres, and Postmortem Time. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01366>
13. Chandler, J. C., Aljasir, S. F., Hamidi, A., Sylejmani, D., Gerow, K. G., & Bisha, B. (2018). Short communication: A countrywide survey of antimicrobial-resistant indicator bacteria in Kosovo's dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 101(8), 6982–6989. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14091>
14. Chaves, B. J., & Tadi, P. (2021, September 29). *Gentamicin*. Nih.gov; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557550/>
15. Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(2), 232–260. <https://doi.org/10.1128/mmbr.65.2.232-260.2001>
16. Chou, P.-Y., Yoon, J., Hersh-Boyle, R. A., & Marcellin-Little, D. J. (2020). Multidrug-Resistant Orthopaedic Surgical Site Infections Treated with Linezolid in Four Dogs. *VCOT Open*, 03(02), e72–e76. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1714141>
17. Čivljak, R., Giannella, M., Di Bella, S., & Petrosillo, N. (2014). Could chloramphenicol be used against ESKAPE pathogens? A review of in vitro data in the literature from the 21st century. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 12(2), 249–264. <https://doi.org/10.1586/14787210.2014.878647>
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. (30<sup>th</sup> edition).

19. Cobos, Á., Díaz, O. (2014) Chemical Composition of Meat and Meat Products. In: Cheung P. (Ed.). *Handbook of Food Chemistry*. (pp. 471 – 510). Berlin: Springer.
20. Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B. (2013). Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 822–880. <https://doi.org/10.1128/cmr.00022-13>
21. Desmarchelier, P., & Fegan, N. (2002). *ESCHERICHIA COLI*. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 948–954. <https://doi.org/10.1016/b0-12-227235-8/00158-9>
22. DeStefano, I. M., Wayne, A. S., Rozanski, E. A., & Babyak, J. M. (2018). Parenterally administered vancomycin in 29 dogs and 7 cats (2003-2017). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(1), 200–207. <https://doi.org/10.1111/jvim.15357>
23. Doyle, M. E., Archer, J., Kaspar, C. W., & Weiss, R. (2006). *FRI briefings human illness caused by E. coli O157: H7 from food and non-food sources*.
24. Dubreuil, J. D. (2014). Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC). In Batt, C. A., & Tortorello, M. L., (Eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology* (2<sup>nd</sup> ed., pp. 728 – 734). London. Elsevier, Ltd.
25. Duffy, G. (2014). Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), Including Non-O157. In Batt, C. A., & Tortorello, M. L., (Eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology* (2<sup>nd</sup> ed., pp. 713 – 717). London. Elsevier, Ltd.
26. Ekici, G., & Dümen, E. (2019). *Escherichia coli* and Food Safety. *The Universe of Escherichia Coli [Working Title]*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82375>
27. Elges, J. (2020, September 15). *Antimicrobial Testing with Mueller Hinton Agar*. BioLabTests. <https://biolabtests.com/mueller-hinton-agar/>
28. Erjavec, S. E. (2019). Introductory Chapter: The Versatile *Escherichia coli*. Intechopen.com. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88882>
29. Feng, P. (2013). *Escherichia coli*. In Labbé, R. G., & García, S. (Eds.). *Guide to Foodborne Pathogens*. (2<sup>nd</sup> ed., pp. 222 – 240). West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd.
30. Food and Agriculture Organization. (2011). Preventing *E. Coli* in Food. FOOD CHAIN CRISIS Management Framework.
31. Galindo-Méndez, M. (2020). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *E. coli Infections - Importance of Early Diagnosis and Efficient Treatment*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93115>

32. Galli, L., Brussa, V., Rodríguez, R., Signorini, M., Otezia, J. M., & Leotta, G. A. (2016). *Escherichia coli* in Food Products. In Torres, A. G. (Ed.). *Escherichia coli in the Americas*. (pp. 173 – 203). Switzerland: Springer International Publishing.
33. Ghita, B. T., Bennani, L., Berrada, S., Benboubker, M., & Bennani, B. (2020). Molecular Serotyping and Antibiotic Resistance Patterns of *Escherichia coli* Isolated in Hospital Catering Service in Morocco. *International Journal of Microbiology*, 2020, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/5961521>
34. Guo, Y., Lee, H., & Jeong, H. (2020). Gut microbiota in reductive drug metabolism. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 61–93. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2020.04.002>  
<https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/chloramphenicol>
35. Harada, T., Itoh, K., Yamaguchi, Y., Hirai, Y., Kanki, M., Kawatsu, K., Seto, K., Taguchi, M., & Kumeda, Y. (2013). A Foodborne Outbreak of Gastrointestinal Illness Caused by Enterotoxigenic *Escherichia coli* Serotype O169:H41 in Osaka, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 66(6), 530–533. <https://doi.org/10.7883/yoken.66.530>
36. Hashemian, S. M., Farhadi, T., & Ganjparvar, M. (2018). Linezolid: a review of its properties, function, and use in critical care. *Drug Design, Development and Therapy*, Volume 12, 1759–1767. <https://doi.org/10.2147/dddt.s164515>
37. Helali, S., & Abdelghani, A. (2020). Fast Detection of Pathogenic *Escherichia coli* from Chicken Meats. *E. Coli Infections - Importance of Early Diagnosis and Efficient Treatment*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91437>
38. Heredia, N., Wesley I., & Garcia S. (2009). *Microbiologically of Safe Foods*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
39. Holmes, N. E., & Charles, P. G. P. (2009). Safety and Efficacy Review of Doxycycline. *Clinical Medicine. Therapeutics*, 1, CMT.S2035. <https://doi.org/10.4137/cmt.s2035>
40. Hudzicki, J. (2009) *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. American Society for Microbiology. ASM.org. <https://asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>
41. Ingerson-Mahar, M. Reid, A. (2011). *FAQ: E. coli: good, bad, and deadly*. American Academy of Microbiology. New York.



42. Jelić, D., & Antolović, R. (2016). From Erythromycin to Azithromycin and New Potential Ribosome-Binding Antimicrobials. *Antibiotics*, 5(3), 29. <https://doi.org/10.3390/antibiotics5030029>
43. Jorgensen, James H., & Ferraro, M. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*, 49(11), 1749–1755. <https://doi.org/10.1086/647952>
44. Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123–140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
45. Kitanov, M. P., & Willms, R. A. (2018). Probability of *Escherichia coli* contamination spread in ground beef production. *Mathematical Biosciences & Engineering*, 15(4), 1011–1032. <https://doi.org/10.3934/mbe.2018045>
46. Köckerling, E., Karrasch, L., Schweitzer, A., Razum, O., & Krause, G. (2017). Public Health Research Resulting from One of the World’s Largest Outbreaks Caused by Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Germany 2011: A Review. *Frontiers in Public Health*, 5. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00332>
47. Lahmer, R. A., & Jones, P. A., Davey W. L. (2017). *Escherichia coli* O157: H7 in food with health-related risks. *Journal of research in health science*, 1(1), 2523-1243.
48. Lampel, K. A. (2014) Enteroinvasive *Escherichia coli*: Introduction and Detection by Classical Cultural and Molecular Techniques. In Batt, C. A., & Tortorello, M. L., (Eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology* (2<sup>nd</sup> ed., pp. 718 – 721). London. Elsevier, Ltd.
49. Landers, T. F., Cohen, B., Wittum, T. E., & Larson, E. L. (2012). A Review of Antibiotic Use in Food Animals: Perspective, Policy, and Potential. *Public Health Reports*, 127(1), 4–22. <https://doi.org/10.1177/003335491212700103>
50. Maaland, M. G., Papich, M. G., Turnidge, J., & Guardabassi, L. (2013). Pharmacodynamics of Doxycycline and Tetracycline against *Staphylococcus pseudintermedius*: Proposal of Canine-Specific Breakpoints for Doxycycline. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(11), 3547–3554. <https://doi.org/10.1128/jcm.01498-13>
51. Martinez-Medina, M. (2021). Special Issue: Pathogenic *Escherichia coli*: Infections and Therapies. *Antibiotics*, 10, 112. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020112>
52. Mead, G. (2004). Microbiological quality of poultry meat: a review. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 6(3), 135–142. <https://doi.org/10.1590/s1516-635x2004000300001>

53. Miller, E. L. (2002). THE PENICILLINS: A REVIEW AND UPDATE. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 47(6), 426–434. [https://doi.org/10.1016/s1526-9523\(02\)00330-6](https://doi.org/10.1016/s1526-9523(02)00330-6)
54. Miranda, J. M., Vázquez, B. I., Fente, C. A., Barros-Velázquez, J., Cepeda, A., & Franco, C. M. (2008). Evolution of resistance in poultry intestinal *Escherichia coli* during three commonly used antimicrobial therapeutic treatments in poultry. *Poultry science*, 87(8), 1643-1648.
55. Mpundu, P., Mbewe, A. R., Muma, J. B., Zgambo, J., & Munyeme, M. (2019). Evaluation of Bacterial Contamination in Dressed Chickens in Lusaka Abattoirs. *Frontiers in Public Health*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00019>
56. Nordkvist, E., Zuidema, T., Herbes, R. G., & Berendsen, B. J. A. (2016). Occurrence of chloramphenicol in cereal straw in north-western Europe. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33(5), 798–803. <https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1176450>
57. Nørrung, B., & Buncic, S. (2008). Microbial safety of meat in the European Union. *Meat Science*, 78(1-2), 14–24. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.032>
58. Ochoa, T. J., & Gómez-Duarte, O. G. (2016). Antibiotic Resistance in *Escherichia coli*. In Torres, A. G. (Ed.). *Escherichia coli in the Americas*. (pp. 301 – 322). Switzerland: Springer International Publishing.
59. Oxoid - Product Detail. (2017). Oxoid.com. [http://www.oxid.com/UK/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM0509&c=UK&lang=EN](http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0509&c=UK&lang=EN)
60. Oxoid - Product Detail. (2021). Oxoid.com. [http://www.oxid.com/UK/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM0005&c=UK&lang=EN](http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0005&c=UK&lang=EN)
61. Oxoid - Product Detail. (2021). Oxoid.com. [http://www.oxid.com/uk/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM0007](http://www.oxid.com/uk/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0007)
62. Pandey, A., Aggarwal, N., Adholeya, A., & Kochar, M. (2018). Resurrection of Nalidixic Acid: Evaluation of Water-Based Nanoformulations as Potential Nanomedicine. *Nanoscale Research Letters*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2718-8>

63. Papich, M. G. (2016). Nitrofurantoin. *Saunders Handbook of Veterinary Drugs*, 567–568. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-24485-5.00415-0>
64. Patel, A. K., Singhanian, P. R., Pandey, A., Joshi, V. K., Nigam, P.S., Soccol, C. R. (2014). Enterobacteriaceae, Coliforms and *E. coli*. In Batt, C. A., & Tortorello, M. L., (Eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology* (2<sup>nd</sup> ed., pp. 659 – 666). London. Elsevier, Ltd.
65. *Peptone Water: What Plant Managers Need to Know*. (2019, September 3). Charm Sciences. <https://www.charm.com/peptone-water-what-plant-managers-need-to-know/>
66. Pfaller, M. A., Mendes, R. E., Streit, J. M., Hogan, P. A., & Flamm, R. K. (2017). Five-Year Summary of In Vitro Activity and Resistance Mechanisms of Linezolid against Clinically Important Gram-Positive Cocci in the United States from the LEADER Surveillance Program (2011 to 2015). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(7). <https://doi.org/10.1128/aac.00609-17>
67. Popiołek, Ł., & Gawrońska-Grzywacz, M. (2015). The Impact of Modifying the Chemical Structure of Nalidixic Acid on the Antimicrobial Activity of Its Derivatives: A Review. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, 7(4), 191–202. <https://doi.org/10.9734/irjpac/2015/17634>
68. Prydal, J. I. (2005). The pharmacokinetics of linezolid in the non-inflamed human eye. *British Journal of Ophthalmology*, 89(11), 1418–1419. <https://doi.org/10.1136/bjo.2005.073700>
69. Ramos, S., Silva, V., Dapkevicius, M. de L. E., Caniça, M., Tejedor-Junco, M. T., Igrejas, G., & Poeta, P. (2020). *Escherichia coli* as Commensal and Pathogenic Bacteria among Food-Producing Animals: Health Implications of Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL) Production. *Animals*, 10(12), 2239. <https://doi.org/10.3390/ani10122239>
70. Remel. (2020). *BactiDrop Oxidaze*. Remel: USA.
71. Rivas, L., Mellor, E. G., Gobius, K., & Fegan. (2015). *Detection and Typing Strategies for Pathogenic Escherichia coli*. London: Springer.
72. Roberts, D. J., & Squibb, B. M. (2014). Erythromycin. In Wexler, P., Abdollahi, M., Peyster, A., Gad, S. C., Grem, H., Harper, S., Moser, V. C., Ray, S., Tarazona, J., Wiegand, T. J. (Eds.). *Encyclopedia of Toxicology*. (3<sup>rd</sup> ed., pp. 453 – 458). London: Elsevier, Inc.
73. Sannes, Mark R., Kuskowski, Michael A., Owens, K., Gajewski, A., & Johnson, James R. (2004). Virulence Factor Profiles and Phylogenetic Background of *Escherichia coli*

- Isolates from Veterans with Bacteremia and Uninfected Control Subjects. *The Journal of Infectious Diseases*, 190(12), 2121–2128. <https://doi.org/10.1086/425984>
74. Santé – Lhoutellier, V., Pospiech, E. (2016). Meat and Muscle Composition Structure of Muscle, Chemical and Biochemical Constitution of Muscle, Nutritional Value. Species and Breed Characteristics. In Przybylski, W., Hopkins, D. (Eds.). *Meat Quality Genetic and Environmental Factors*. (pp. 1 – 31). Boca Raton: CRC Press.
75. Schroeder, C. M., Meng, J., Zhao, S., DebRoy, C., Torcolini, J., Zhao, C., McDermott, P. F., Wagner, D. D., Walker, R. D., & White, D. G. (2002). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O26, O103, O111, O128, and O145 from animals and humans. *Emerging Infectious Diseases*, 8(12), 1409–1414. <https://doi.org/10.3201/eid0812.0200770>
76. Seidavi, A., Mirhosseini, S. Z., Shivazad, M., Chamani, M., Sadeghi, A. A., & Pourseify, R. (2010). Detection and investigation of *Escherichia coli* in contents of duodenum, jejunum, ileum and cecum of broilers at different ages by PCR. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 18, 321-326.
77. Shar, A. H., Kazi, Y. F., Kanhar, N. A., Soomro, I. H., Zia, S. M. and Ghumro, P. B. (2010). Drinking water quality in Rohri City, Sindh, Pakistan. *African Journal of Biotechnology* 9 (42): 7102-7107.
78. Shields, P., & Cathcart, L. (2010). *Oxidase Test Protocol*. American Society for Microbiology. <https://asm.org/Protocols/Oxidase-Test-Protocol>
79. Siriken, B. (2004). The microbiological quality of ground beef in Aydin and Afyon Provinces, Turkey. *Revue Méd Vét.* 155 (12), 632-6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3881111/>
80. Smith, A., & Hussey, M. (2019). *Gram Stain Protocols*. American Society for Microbiology. <https://asm.org/Protocols/Gram-Stain-Protocols>
81. Sofos, J. N. (2008). Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science*, 78(1-2), 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.027>
82. Sousa, C. P. (2006). The versatile strategies of *Escherichia coli* pathotypes: a mini review. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 12(3). <https://doi.org/10.1590/s1678-91992006000300002>
83. Squadrito, F. J., & Portal, D. (2021, July 13). *Nitrofurantoin*. Nih.gov; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470526/>

84. The Hartford. (1998). *Food Processing: Understanding and Controlling E. Coli Contamination*. Hartford Loss Control Department.
85. Van, T. T. H., Yidana, Z., Smooker, P. M., & Coloe, P. J. (2020). Antibiotic use in food animals worldwide, with a focus on Africa: Pluses and minuses. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 20, 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.07.031>
86. Venkitanarayanan, K. S., Doyle, M. P. (2003). *Escherichia coli*. In Caballero, B., Fingals, P., & Toldra, F. (Eds.). *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. (pp. 2150 – 2162). San Diego: Elsevier Science Publishing Co Inc.
87. Waters, M., & Prasanna Tadi. (2021, September 29). *Streptomycin*. Nih.gov; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555886/>
88. Wijsekara, P., Kumbukgolla, W., Jayaweera, J., & Rawat, D. (2017). Review on Usage of Vancomycin in Livestock and Humans: Maintaining Its Efficacy, Prevention of Resistance and Alternative Therapy. *Veterinary Sciences*, 4(4), 6. <https://doi.org/10.3390/vetsci4010006>
89. Yang, S.-C., Lin, C.-H., Aljuffali, I. A., & Fang, J.-Y. (2017). Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. *Archives of Microbiology*, 199(6), 811–825. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1393-y>
90. Yang, X., & Wang, H. (2014). Pathogenic *E. coli* (Introduction). In Batt, C. A., & Tortorello, M. L., (Eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology* (2<sup>nd</sup> ed., pp. 695 – 701). London. Elsevier, Ltd.
91. Yip, D. W., & Gerriets, V. (2021, September 30). *Penicillin*. Nih.gov; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554560/>