

## Isolation and Molecular Characterization of Colistin-Resistant *Escherichia coli* in Raw Meat Samples

Mukaddes BAREL<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Public health, Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University, Kayseri, Türkiye

### ABSTRACT

Antimicrobial resistance occurring in a wide variety of Gram negative bacteria is considered an ongoing public health threat. For this reason, unconscious use of antimicrobials reveals new resistance mechanisms, and these resistance mechanisms are spreading globally. Due to these reasons, our current study aimed to isolate colistin-resistant *Escherichia coli* in raw meat samples and molecular characterization of resistance genes. For this purpose, the *trpA* gene was detected in 90 (75%) of the *E. coli* isolates obtained from 300 samples. *mcr-1* gene was found in 8 (8.8%) of the isolates confirmed as *E. coli*. However, as a result of the PCR analysis, O45:H2, O103:H2, O121:H19, O145:H28, O26:H11, O111:H8 *E. coli* serogroups and virulence genes were not found in any isolate. Additionally, isolates 7 (7.7%), 5 (5.5%), 29 (32.2%), 23 (25.5%), 8 (8.8%), 10 (9%), 2 (2.2%) and 6 (6.6%). It was found to be acid resistant to tetracycline, erythromycin, gentamicin, azithromycin, imipenem, ampicillin and nalidixic acid, respectively.

**Keywords;** Antimicrobial resistance, *Escherichia coli*, kolistin

\*\*\*

### Çiğ Et Örneklerinde Kolistine Dirençli *Escherichia coli*'nin İzolasyonu ve Moleküler Karakterizasyonu

### ÖZ

Çeşitli Gram-negatif bakterilerde meydana gelen antimikrobiyal direnç devam eden bir halk sağlığı tehdidi olarak nitelendirilmektedir. Bu nedenle bilinçsiz antimikrobiyal kullanımı yeni direnç mekanizmalarını ortaya çıkarmakta ve söz konusu bu mekanizmalar küresel olarak yayılmaktadır. Bu nedenler ışığında, mevcut çalışmamızda, çiğ et örneklerinde kolistin dirençli *E. coli* izolasyonu ve direnç genlerinin moleküler karakterizasyonu amaçlanmıştır. Bu amaçla, 300 örnekten elde edilen *E. coli* izolatının 90 (%75)'inde *trpA* geni saptanmıştır. *E. coli* olarak doğrulanan izolatın 8 (%8.8)'inde *mcr-1* geni bulunmuştur. Ancak yapılan PCR analizi sonucunda hiçbir izolatta O45:H2, O103:H2, O121:H19, O145:H28, O26:H11, O111:H8 *E. coli* serogrupları ve virülens genleri bulunamamıştır. Ayrıca, *E. coli* izolatları disk difüzyon testi sonucunda 7 (%7.7), 5 (%5.5), 29 (%32.2), 23 (%25.5), 8 (%8.8), 10 (%9), 2 (%2.2) ve 6 (%6.6) oranlarında sırasıyla tetrasiklin, eritromisin, gentamisin, azitromisin, imipenem, ampisilin, nalidiksik aside asit dirençli bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler;** Antimikrobiyal dirençlilik, *Escherichia coli*, kolistin

To cite this article: Barel M. Isolation and Molecular Characterization of Colistin-Resistant *Escherichia coli* in Raw Meat Samples. Kocatepe Vet J. (2024) 17(1): 48-54.

Submission: 03.01.2024 Accepted: 04.03.2024 Published Online: 06.03.2024

ORCID ID; MB: 0000-0002-1170-8632

\*Corresponding author e-mail: [mukaddesbarel@erciyes.edu.tr](mailto:mukaddesbarel@erciyes.edu.tr)

## GİRİŞ

*Escherichia coli*, dünya genelinde insan ve hayvanlarda enfeksiyonlara neden olabilen ve toplumlara önemli ölçüde tıbbi, sosyal ve bakım maliyetleri getiren fırsatçı bir patojendir (Redweik ve ark., 2020). Gıda kaynaklı bir patojen olan *E. coli* insanlarda genellikle sepsise, farklı yaşlardaki çocuklarda ise orta veya şiddetli enfeksiyonlara neden olmaktadır (Manges ve ark., 2019 ; Wasinski, 2019). *E. coli*'nin hayvanlar ve insanlar arasındaki bulaşı, çiğ veya az pişmiş et, çiğ süt ve suyun hayvan dışkı ile kontaminasyonu aracılığıyla olmaktadır. Kolistine dirençli bakteriler ise son on yılda çevre, gıda, su ve bitkilerde varlığını göstermiştir (Koskeroglu ve ark., 2023). Gram negatif bakterilerin sahip olduğu plazmidler ve integronlarda mevcut gen kasetleri gibi mobil genetik elementler, bu bakteriler arasında direnç genlerinin yayılmasında kilit rol oynamaktadır. Bu nedenle insan ve veteriner hekimliğinde yapılan tedavinin başarısız olmasına ve tedavinin uzamasına neden olmaktadır (Kim ve ark., 2018; Poirel ve ark., 2018; Berglund, 2018; Liu, 2018). Antibiyotikler patojen bakterileri hedef almakla birlikte, aynı zamanda memeli bağırsaklarındaki doğal florayı da etkileyerek vücuttaki doğal dengenin bozulmasına ve bağırsaklarda ciddi ikincil etkilere neden olmaktadır (Enany ve ark., 2019). Son yıllarda bakteriyel hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz kullanımı (hayvanlarda ve insanlarda tarım ve tedavi amaçlı) nedeniyle çoklu ilaca dirençli bakterilerin ortaya çıkışı önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir (Hizlisoy ve ark., 2017; McLellan ve ark., 2018; Wolfensberger ve ark., 2019 ; Komijani ve ark., 2018). Söz konusu dirençli bakterilerin ortaya çıkışı kolistin gibi güçlü antibiyotiklerin fazla kullanımına neden olmuştur. Bu sebeple hastalıklara neden olan patojen mikroorganizmaları azaltılabilmesi için etkili ve güvenli terapötik alternatiflere acil ihtiyaç duyulmaktadır (Shahin ve ark., 2020). Söz konusu bu nedenlere bağlı olarak, mevcut çalışmamızda çiğ et örneklerinde kolistin dirençli *E. coli* izolasyonu ve direnç genlerinin moleküler karakterizasyonu amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

#### *Örneklerin Toplanması*

Bu çalışmada, 2020-2022 yılları arasında 12 ay boyunca Kayseri ilinde bulunan satış noktalarından

(beş adet) her bir ziyarette 25 adet (beşer adet) örnek olmak üzere toplamda 300 adet çiğ et örneği elde edilmiştir. Toplanan örnekler steril poşetler içerisine alınarak soğuk zincirde aynı gün içerisinde Erciyes Üniversitesi veteriner fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi laboratuvarına getirilmiş ve analiz edilinceye kadar +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

### Metot

#### *E. coli'nin fenotipik identifikasyonu*

Tüm örneklerde *E. coli* izolasyonu ISO 16649-2 kriterlerine göre yapılmıştır. Bu amaçla Eozin Metilen Blue (EMB) Agar'da (Merck,103858) spesifik metalik rengi (yeşil) veren tüm şüpheli koloniler *E. coli* olarak kabul edilmiştir. Elde edilen şüpheli koloniler alınarak Blood agar'da (Merck,103879) ekilmiş ve 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda elde edilen koloniler %10 oranında gliserol içeren Brucella broth (Merck. B3051)'lu cryovial tüplere alınarak -81°C'de mufaza edilmiştir.

#### *DNA Ekstraksiyonu*

Bakteri DNA'sını elde etmek amacıyla InstaGene Matrix kiti (Bio-Rad, ABD) kullanılmış olup, bu işlem kit protokolünde belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Bu sürenin sonunda elde edilen süpernatant yeni bir ependorfa alınarak, hedef DNA olarak kullanılmak üzere -20° C'de saklanmıştır.

#### *Plazmit Ekstraksiyonu*

Kolistine dirençli suşlardan plazmid ekstraksiyonu, üreticinin protokolüne göre QIAprep Spin Miniprep Columns (QIAGEN, 27115) kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen RNA tüm genom analizi için firmaya (Sugenomik Biotechnology) gönderilmiştir (Şekil 2).

#### *E. coli'nin Moleküler İdentifikasyonu*

Fenotipik testlerle *E. coli* olarak tespit edilen izolatların doğrulanması amacıyla PCR yöntemi kullanılmıştır (Clermont et al., 2013). Reaksiyon karışımı; her bir primerden 0.2 µM, 200 µM dntp, 2.5 µl PCR reaksiyon buffer, 3mM MgCl<sub>2</sub> U Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific; EP0402, ABD) ve 1 µl DNA'dan oluşmuştur. Termal döngü koşulları; 94° C'de 5 dk ilk denatürasyon; 94°C'de 10 sn son denatürasyon, 59° C'de 20 sn primer bağlanması (Tablo 1), 72° C'de 10 sn uzama, 72° C'de 5 dk son uzama aşaması olmak üzere 30 döngü ve 25 µL hacimde gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan primer çiftleri  
**Table 1.** Primer pairs used in the study

GENES	FORWARD	REVERSE	SIZE (bp)	REFERENCES
O45	TGCAGTAACCTGCACGGGCG	AGCAGGCACAACAGCCACTACT	23 8	DebRoy et al., 2011
O121	TCCAACAATTGGTCGTGAAA	AGAAAG TGTGAAATGCCCGT	62 8	DebRoy et al., 2011
O145	TTCATTGTTTTGCTTGCTCG	GGCAAGCTTTGGAAATGAAA	75 0	DebRoy et al., 2011
O26	CAATGGGCGGAAATTTAGAG	ATAATTTTCTCTGCGTCGC	15 5	DebRoy et al., 2011
O111	TGTTTCTTCGATGTTGCGAG	GCAAGGGACATAAGAAGCCA	43 8	DebRoy et al., 2011
O103	TTGGAGCGTTAACTGGACCT	GCTCCCGAGCACGTATAAAAG	32 1	DebRoy et al., 2011
H2	TGATCCGACATCTCCTGATG	CCGTCATCACCAATCAACGC	22 8	Banjo et al., 2018
H19	GCTGGCGATACATTTACCGC	CGCCGCTGTCATCAATGTTT	59 2	Banjo et al., 2018
H28	CTGGCATAACAGGCACAC	TCAGCTTTGGTGTAAGCGTC	28 5	Banjo et al., 2018
H11	AACAACAACCTGCAGCGGATG	TCGGGCTACCACCTTCTGAT	34 1	Banjo et al., 2018
H8	CGGCGCGGTTAAGAATGATG	CCGTTTACCATCTGCGCTG	46 7	Banjo et al., 2018
<i>tpA</i>	CGGCGATAAAGACATCTTCAC	GCAACGCGCCTGGCGGAAG	48 9	Clermont et al., 2012
<i>Mer-1</i>	ACGCCATCTGCAACACCAA	GCCAACGAGCATAACCGACAT	-	-

### Disk Difüzyon Testleri

*E. coli* olarak tanımlanmış bakterilerin çeşitli antibiyotiklere karşı direnç durumunu belirlemek amacıyla disk difüzyon testi Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsünün (2016) önerdiği prosedüre göre yapılmıştır (Bauer ve ark., 1996). Antibiyotik duyarlılık test diskleri seftriakson (CRO 30 µg), sefalotin (KF 30 µg), sefipim (FEP 30 µg), sefksim (CFM 5 µg), fosfomisin (FOS 50 µg), mecillinam (MEL 25 µg), tetrasiklin (TE 30 µg), sülfametoksazol-trimetoprium (SXT 25 µg), levofloksasin (LEV 5 µg), eritromisin (E 15 µg), azitromisin (AZM 15 µg), imipenem (IPM 10 µg), ampicilin (AMP 10 µg), nalidiksik asit (NA 30 µg), siprofloksasin (CIP 5 µg), gentamisin (CN 10 µg), kloramfenikol (C 30 µg) ve aztreonam (ATM 10 µg) Müller- Hinton agar (Merck, 103876) üzerine yerleştirilmiştir. Petriler, aerobik 37° C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılacak, inkübasyon periyodu sonunda oluşan zon çapları ölçülerek değerlendirme yapılmıştır (CLSI, 2016).

### Virülens genlerinin PCR ile tespiti

Fenotipik testlerle *E. coli* olarak tespit edilen izolatlara ait virülens gen (*stx1*, *stx2* *eae* ve *hlyA*) tespiti PCR yöntemi ile yapılmıştır. Reaksiyon karışımı; her bir primerden 0.5 µM, 400 µM dntp, 1X PCR buffer, 3mM MgCl<sub>2</sub> 1.5 U Taq DNA polimeraz (Thermo

Scientific; EP0402, ABD) ve 1 µl kalıp DNA olmak üzere toplamda 50µL hacimde gerçekleştirilmiştir.

Termal döngü koşulları; 94° C'de 2 dk ilk denatürasyon aşamasından sonra 94° C'de 20 sn son denatürasyon, 54° C'de 1 dk primer bağlanması, 72° C'de 1 dk uzama ve 72° C'de 10 dk son uzama aşaması olmak üzere 35 döngüden oluşmuştur (Barel ve ark., 2022).

### Real Time PCR ile Kolistin Direnç Geninin (*mcr-1*) Tespiti

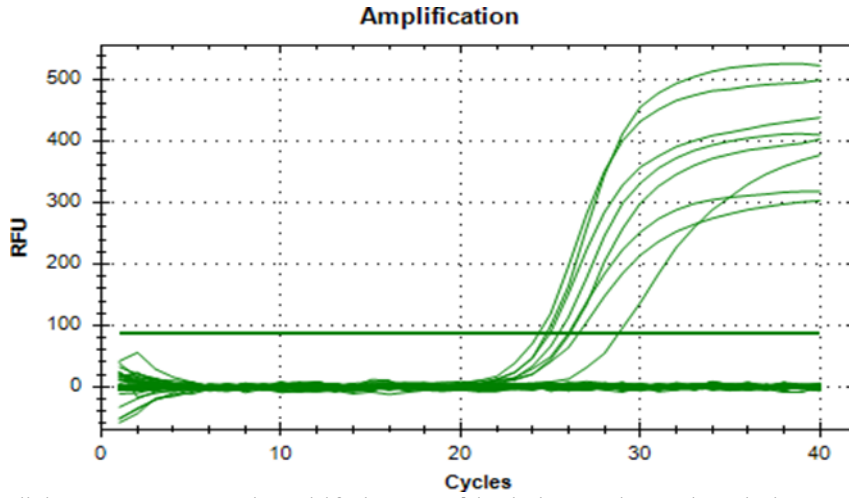
*E. coli* olarak belirlenen izolatların tespiti amacıyla Real Time PCR kullanılmıştır. Reaksiyon toplam 20µL hacminde gerçekleştirilmiş olup, her bir primerden 0,1 µM DNA'dan 2 µl olacak şekilde Syber green supermix (Bio-Rad) kullanılarak yapılmıştır. Termal döngü koşulları; 95° C'de 10 dk ilk denatürasyon aşamasından sonra 95° C'de 15 sn son denatürasyon, 63° C'de 2 dk primer bağlanması ve 72° C'de 10 sn uzama olacak şekilde 40 döngüden oluşmuştur (Şekil 1).

## BULGULAR

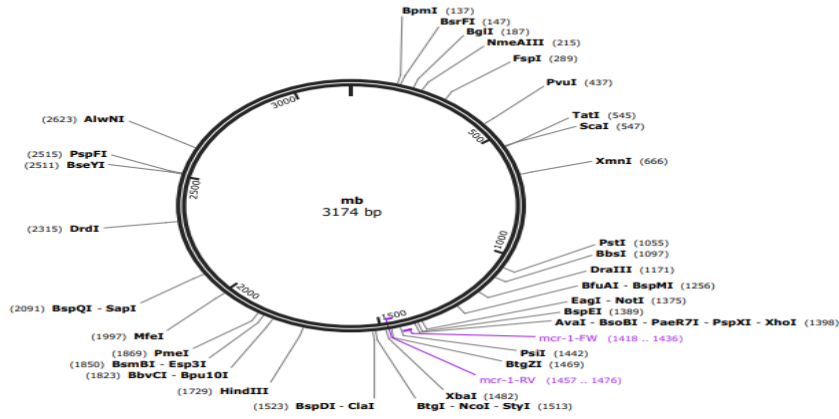
Çalışmada 300 örnekten konveksiyonel metot ile elde edilen 90 (%75) izolatta *tpA* geni saptanmıştır. Buna

ek olarak yapılan PCR analizi sonucunda hiçbir izolatta *E. coli* serogupları (O45:H2, O103:H2, O121:H19, O145:H28, O26:H11, O111:H8) bulunamamıştır. Ayrıca, analiz sonucuna göre toplamda 8 (%8.8) *mcr-1* geni bulunmuştur (Şekil 1). Bu çalışmada hiçbir izolatta virülens genlerine

rastlanılmamıştır. Ayrıca, *E. coli* izolatları 7 (%7.7), 5 (%5.5), 29 (%32.2), 23 (%25.5), 8 (%8.8), 10 (%9), 2 (%2.2) ve 6 (%6.6) oranlarında sırasıyla tetrasiklin, eritromisin, gentamisin, azitromisin, imipenem, ampisilin, nalidiksik asit dirençli bulunmuştur.



Şekil 1: Real time analizi sonucu *mcr-1* geni pozitif olan *E. coli* izolatlarına ait Cq değerleri  
Figure 1: Cq values of *E. coli* isolates with *mcr-1* gene positive as a result of real time analysis



Şekil 2: Tüm genom analizine ait sirküler grafik  
Figure 2: Circular graph of whole genome analysis

## TARTIŞMA

Çalışmada 300 örnekten konveksiyonel metot ile elde edilen 90 (%75) izolatta *tpaA* geni saptanmıştır. Ghafur ve ark. (2019) çiğ gıdalar ile yaptıkları bir çalışmada *E. coli* düzeyini %20 olarak rapor etmiştir. Aklilu ve Raman, (2020) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise *E. coli* %54 düzeyinde olduğu bildirilmiştir. Tüm bu çalışmalara ek olarak, Guo ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada ise *E. coli* düzeyini

%24 olarak rapor etmiştir. Yapılan çalışmaların (Ghafur ve ark., 2019; Aklilu ve Raman, 2020; Guo ve ark., 2021) pozitif *E. coli* oranları bu çalışmadaki orandan düşük olduğu görülmüştür. Bu çalışma sonucundan yüksek olarak Adzitey (2020) çiğ et örnekleriyle yaptıkları bir çalışmada *E. coli* düzeyini %90 olarak bildirmiştir. Sonuçlar arasındaki farklılıklar örnekleme yöntemine, test edilen numunelerin farklılığına ve tespit tekniğine atfedilebilir (Barel ve ark., 2022).

Bu çalışmada yapılan PCR analizi neticesinde hiçbir izolatta O45:H2, O103:H2, O121:H19, O145:H28, O26:H11, O111:H8 *E. coli* serotipleri bulunamamıştır. Ancak, Mokhta ve Karmi (2021) tarafından sucuk kıyma ve tavuk eti ile yapılan bir çalışmada 2 izolatta O26:H11 ve O119:H6 serotipi tespit edildiği bildirilmiştir. Bu sonucun mevcut çalışmamızdaki sonuçtan yüksek olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçlarına paralel olarak Cho ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada hiçbir izolatta *E. coli* serotiplerine rastlanılmadığı belirtilmiştir. Bu çalışma ve diğer çalışmadaki *E. coli* serotiplerine rastlanılmaması, analize tabi tutulan örneklerin azlığı veya az sayıda serogrup içermesinden kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Renter ve ark., 2007). Analiz sonucuna göre bu çalışmada toplamda 8 (%8.8) izolatta *mcr-1* geni bulunmuştur. Aklilu ve Raman (2020) yaptıkları bir çalışmada pozitif *mcr-1* genini %93 oranında bulduklarını rapor etmiştir. Yapılan başka bir çalışmada *mcr-1* geni %20 oranında bulunmuştur (Adiguzel ve ark., 2021). Zhang ve ark. (2022) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise *mcr-1* geni %20 oranında rapor edilmiştir. Ancak, Rega ve ark. (2021) tarafından yapılan başka bir çalışma ise hiçbir izolatta *mcr-1* geni tespit edilemediği bildirilmiştir. Yapılan tüm çalışma sonuçları (Aklilu ve Raman, 2020; Adiguzel ve ark., 2021; Zhang ve ark., 2022) bu çalışma sonucundan oldukça yüksek olduğu görülürken, Rega ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışma sonucundan yüksek olduğu görülmüştür. Bu çalışmada hiçbir izolatta virülens genlerine rastlanılmamıştır. Nehoya ve ark. (2020) yaptıkları bir çalışmada izolatların %8'inde *eae* ve *stx1* birlikte bulunurken, %40'ında ise *eae*, *stx1* ve *stx2* virülans genleri birlikte bulunduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak, Babolhavaeji ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada virülens gen oranlarını *stx1* 1 (%12.5), *stx1/hly* 5 (%62.5) ve *stx2/hly* 2 (%25) olarak rapor edilmiştir. Momtaz ve Jamshidi (2013) yaptıkları bir çalışmada *stx1*, *eaeA* ve *hly* virülans genlerinin oranını 5 (%9.80) olarak bulmuştur. Yapılan tüm çalışma sonuçları (Momtaz ve Jamshidi, 2013; Nehoya ve ark., 2020; Babolhavaeji ve ark., 2021) bu çalışma sonucundan yüksek olduğu görülmüştür. *E. coli* izolatlarında *stx* geninin bulunmaması, Karch ve ark. (1992) bildirdiği gibi zenginleştirme sırasında *stx* geninin kendiliğinden kaybıyla ilişkili olabileceği belirtilirken, plazmit üzerinde taşınan *hlyA* geninin bakteri kültürleme sonrasında plazmid ile kaybolabileceği bu durumun tüm izolatlarda *hlyA* geninin belirlenememesinin bir nedeni olabileceği bildirilmiştir (Ferdous, 2017; Wetzel ve Lejeune, 2007). İzolatların 7 (%7.7), 5 (%5.5), 29 (%32.2), 23 (%25.5), 8 (%8.8), 10 (%9), 2 (%2.2) ve 6 (%6.6) oranlarında sırasıyla tetrasiklin, eritromisin, gentamisin, azitromisin, imipenem, ampisilin ve nalidiksik asite dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucuna benzer olarak Kassem ve ark. (2020) ve Mgaya ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada tetrasikline (%91.9) sülfametoksazol-

trimetoprim (%80.5), ampisilin (%70.9), siprofloksasin (%40.2) ve %25 sefotaksim, gentamisin (%10.8) ve imipenem (%8.6) olarak bildirilmiştir. Buna karşın, bu çalışma sonucundan yüksek olarak Mashak ve ark., (2018) yaptıkları çalışmada ampisilin, gentamisin, tetrasiklin ve siprofloksasin oranlarını sırasıyla (%100), (%90.47), (%85.71) ve (%71.42) olarak bildirmiştir.

## SONUÇ

Çalışmada 300 örnekten konveksiyonel metot ile elde edilen 90 (%75) izolatta *trpA* geni saptanmıştır. Hayvanların kesim işlemi sırasında dışkı kontaminasyona dikkat edilmesi, üretimden tüketime kadar ki her aşamada et ve et ürünlerinin patojen *E. coli* türleri ile kontaminasyonuna sebep olan engellerin ortadan kaldırılması, antibiyotiklere dirençli *E. coli* varlığının azaltılması halk sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir. Ayrıca, kesimhanelerde çalışan personele gerekli ve yeterli hijyen eğitimlerinin etlerin dışkı ile kontaminasyonun engellenmesinde oldukça önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

**Çıkar çatışması:** Yazarların rapor edecekleri herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

**Yazar katkı Oranları:** MB, çalışmanın proje fikrine, tasarımına ve yürütülmesine katkıda bulundu, verilerin toplanmasına katkıda bulundu, taslağı hazırladı ve yazdı, makaleyi eleştirel olarak inceledi.

**Etik Kurul Bilgileri :** “Bu çalışma “Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik” 8(k) uyarınca HADYEK'in iznine tabi değildir. Bu makalede sunulan veri, bilgi ve belgeler akademik ve etik kurullar çerçevesinde elde edilmiştir.”

## KAYNAKLAR

- Papouskova A. (2020). Genomic analysis of *Escherichia coli* strains isolated from diseased chicken in the Czech Republic. BMC veterinary research, 16(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02407-2>
- Adiguzel, M. C., Baran, A., Wu, Z., Cengiz, S., Dai, L., Oz, C., & Sahin, O. (2021). Prevalence of colistin resistance in *Escherichia coli* in Eastern Turkey and genomic characterization of an *mcr-1* positive strain from retail chicken meat. Microbial Drug Resistance, 27(3), 424-432. <https://doi.org/10.1089/mdr.2020.0209>
- Adzitey, F. (2020). Incidence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from beef (meat muscle, liver and kidney) samples in Wa Abattoir, Ghana. Cogent Food & Agriculture, 6(1), 1718269. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1718269>
- Aklilu, E., & Raman, K. (2020). MCR-1 gene encoded colistin-resistant *Escherichia coli* in raw chicken meat and bean sprouts in Malaysia. International journal of

- Babolhavaeji, K., Shokoohzadeh, L., Yavari, M., Moradi, A., & Alikhani, M. Y. (2021).** Prevalence of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 and Non-O157 Serogroups Isolated from Fresh Raw Beef Meat Samples in an Industrial Slaughterhouse. *International journal of microbiology*, 2021.  
<https://doi.org/10.1155/2021/1978952>
- Bauer, A. W., M.D., Kirby, W. M. M., M.D., J. C. Sherris, M.D., M. Turck, M.D. (1966).** Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 45, Issue 4<sub>ts</sub>, April 1966, Pages 493–496.
- Barel M, Hizlisoy H, Gungor C, Dishan A, Disli HB, Al S, Ertaş Onmaz N, Yildirim Y, Gonulalan, Z.** *Escherichia coli* serogroups in slaughterhouses: Antibiotic susceptibility and molecular typing of isolates. *Int J Food Microbiol.* 2022; 371:109673.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109673>
- Berglund, B. (2019).** Acquired resistance to colistin via chromosomal and plasmid-mediated mechanisms in *Klebsiella pneumoniae*. *Infectious Microbes & Diseases*, 1(1), 10-19. doi: 10.1097/IM9.000000000000002
- Cho, Y. S., Koo, M. S., & Jang, H. J. (2020).** Characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef, pork, and chicken meat in Korean markets. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 48(2), 121-128.  
<https://doi.org/10.4014/mbl.1912.12005>
- Clermont, O., Christenson, J. K., Denamur, E., & Gordon, D. M. (2013).** The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental microbiology reports*, 5(1), 58-65. CLSI, C. (2016). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Lab Standards Institute*, 35(3), 16-38.  
<https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>
- Enany, M. E., Algammal, A. M., Nasef, S. A., Abo-Eillil, S. A., Bin-Jumah, M., Taha, A. E., & Allam, A. A. (2019).** The occurrence of the multidrug resistance (MDR) and the prevalence of virulence genes and QACs resistance genes in *E. coli* isolated from environmental and avian sources. *AMB Express*, 9(1), 1-9.  
<https://doi.org/10.1186/s13568-019-0920-4>
- Ghafur, A., Shankar, C., GnanaSoundari, P., Venkatesan, M., Mâni, D., Thirunarayanan, M. A., & Veeraraghavan, B. (2019).** Detection of chromosomal and plasmid-mediated mechanisms of colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from Indian food samples. *Journal of global antimicrobial resistance*, 16, 48-52. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.09.005>
- Guo, S., Aung, K. T., Leekitcharoenphon, P., Tay, M. Y., Seow, K. L., Zhong, Y., & Schlundt, J. (2021).** Prevalence and genomic analysis of ESBL-producing *Escherichia coli* in retail raw meats in Singapore. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 76(3), 601-605.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkaa461>
- Hizlisoy, H., Al, S., Onmaz, N. E., Yildirim, Y., Gönülalan, Z., & Gümüşsoy, K. S. (2017).** Antimicrobial resistance profiles and virulence factors of *Escherichia coli* O157 collected from a poultry processing plant. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 41(1), 65-71. doi:10.3906/vet-1602-22
- Indraswari, A., Haryanto, A., Suardana, I. W., & Widiasih, D. A. (2021).** Isolation and detection of four major virulence genes in O157: H7 and non-O157 *E. coli* from beef at Yogyakarta Special Province, Indonesia. *J. Anim. Health Prod*, 9(4), 371-379.  
<http://dx.doi.org/10.17582/journal.jahp/2021/9.4.371.379>
- Kassem, I. I., Nasser, N. A., & Salibi, J. (2020).** Prevalence and loads of fecal pollution indicators and the antibiotic resistance phenotypes of *Escherichia coli* in raw minced beef in Lebanon. *Foods*, 9(11), 1543.  
<https://doi.org/10.3390/foods9111543>
- Kim, Y. B., Yoon, M. Y., Ha, J. S., Seo, K. W., Noh, E. B., Son, S. H., & Lee, Y. J. (2020).** Molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* from broiler chickens with colibacillosis. *Poultry Science*, 99(2), 1088-1095
- Komijani, M., Shahin, K., Barazandeh, M., & Sajadi, M. (2018).** Prevalence of extended- spectrum  $\beta$ -lactamases genes in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Medical Laboratory Journal*, 12(5), 34-41.  
<https://doi.org/10.1016/j.lvt.2021.112836>
- Koskeroglu, K., Barel, M., Hizlisoy, H., & Yildirim, Y. (2023).** “Biofilm Formation and Antibiotic Resistance Profiles of Water-borne Pathogens. *Research in Microbiology*, 104056.  
<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104056>
- Liu, H., Zhu, B., Liang, B., Xu, X., Qiu, S., Jia, L., & Song, H. (2018).** A novel mcr-1 variant carried by an IncI2-type plasmid identified from a multidrug resistant enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology*, 9, 815. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00815>
- M. (2020).** Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw beef from informal and commercial abattoirs. *Plos one*, 15(12), e0243828.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243828>
- Manges, A. R., Geum, H. M., Guo, A., Edens, T. J., Fibke, C. D., & Pitout, J. D. (2019).** Global extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) lineages. *Clinical microbiology reviews*, 32(3), e00135-18. DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.00135-18>
- Mashak, Z. (2018).** Virulence genes and phenotypic evaluation of the antibiotic resistance of vero toxin producing *Escherichia coli* recovered from milk, meat, and vegetables. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 11(5). DOI: <https://doi.org/10.5812/jjm.62288>

- McLellan, J. E., Pitcher, J. I., Ballard, S. A., Grabsch, E. A., Bell, J. M., Barton, M., & Grayson, M. L. (2018). Superbugs in the supermarket? Assessing the rate of contamination with third-generation cephalosporin-resistant gram-negative bacteria in fresh Australian pork and chicken. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 7(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0322-4>
- Mgaya, F. X., Matee, M. I., Muhairwa, A. P., & Hoza, A. S. (2021). Occurrence of multidrug resistant *Escherichia coli* in raw meat and cloaca swabs in poultry processed in slaughter slabs in Dar es Salaam, Tanzania. *Antibiotics*, 10(4), 343. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040343>
- Mokhtar, A., & Karmi, M. (2021). Surveillance of food poisoning *Escherichia coli* (STEC) in ready-to-eat meat products in Aswan, Egypt. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 52(The 9th International Conference of Veterinary Research Division National Research Centre, Giza, Egypt 27th-29th September 2021), 41-50. DOI: [10.21608/ejvs.2021.94025.1277](https://doi.org/10.21608/ejvs.2021.94025.1277)
- Nehoya, K. N., Hamatui, N., Shilangale, R. P., Onywere, H., Kennedy, J., & Mwapagha, L.Paitan, Y. (2018). Current trends in antimicrobial resistance of *Escherichia coli*. *Escherichia coli*, a versatile pathogen, 181-211
- Päivärinta, M., Latvio, S., Fredriksson-Ahomaa, M., & Heikinheimo, A. (2020). Whole genome sequence analysis of antimicrobial resistance genes, multilocus sequence types and plasmid sequences in ESBL/AmpC *Escherichia coli* isolated from broiler caecum and meat. *International journal of food microbiology*, 315, 108361. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108361>
- Papouškova, A., Masarikova, M., Valcek, A., Senk, D., Cejkova, D., Jahodarova, E., & Cizek, Poirel, L., Madec, J. Y., Lupo, A., Schink, A. K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 6(4), 6-4. DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017>
- Redweik, G. A., Stromberg, Z. R., Van Goor, A., & Mellata, M. (2020). Protection against avian pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella kentucky* exhibited in chickens given both probiotics and live *Salmonella* vaccine. *Poultry science*, 99(2), 752-762. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.038>
- Rega, M., Carmosino, I., Bonilauri, P., Frascolla, V., Vismarra, A., & Bacci, C. (2021). Prevalence of ESβL, AmpC and Colistin-Resistant *E. coli* in meat: a comparison between pork and wild boar. *Microorganisms*, 9(2), 214. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020214>
- Renter, D. G., Bohaychuk, V., Van Donkersgoed, J., & King, R. (2007). Presence of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in feces from feedlot cattle in Alberta and absence on corresponding beef carcasses. *Canadian journal of veterinary research*, 71(3), 230
- Shahin, K., Bao, H., Zhu, S., Soleimani-Delfan, A., He, T., Mansoorianfar, M., & Wang, R. (2022). Bio-control of O157: H7, and colistin-resistant MCR-1-positive *Escherichia coli* using a new designed broad host range phage cocktail. *LWT*, 154, 112836. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112836>
- Wasiński, B. (2019). Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*-threat connected with food-borne infections. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 26(4), 532-537
- Wolfensberger, A., Kuster, S. P., Marchesi, M., Zbinden, R., & Hombach, M. (2019). The effect of varying multidrug-resistance (MDR) definitions on rates of MDR gram-negative rods. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0614-3>
- Zhang, S., Huang, Y., Chen, M., Yang, G., Zhang, J., Wu, Q., & Zhang, Y. (2022). Characterization of *Escherichia coli* O157: non-H7 isolated from retail food in China and first report of mcr-1/IncI2-carrying colistin-resistant *E. coli* O157: H26 and *E. coli* O157: H4. *International Journal of Food Microbiology*, 378, 109805. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109805>