

## Sağlıklı Görünen Hayvanların Dışkılarından İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Biyokimyasal, Enterotoksijenik ve Verotoksijenik Özelliklerinin Belirlenmesi\*

Timur GÜLHAN

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 65080 Van-TÜRKİYE

### ÖZET

Bu araştırmada, Van merkez ve ilçelerindeki klinik olarak sağlıklı görünen hayvanların dışkılarından izole edilen *E. coli* suşlarının önemli biyokimyasal özellikleri, tavşan ince barsak ligatür testiyle enterotoksijenik, Vero hücre kültürü tekniği ile verotoksijenik, lateks aglütinasyon testiyle serotipik karakterlerinin incelenmesi ve bu karakterler arasında hayvan türlerine göre benzerlik veya farklılıkların saptanması amaçlandı. Çalışmada, 12 farklı hayvan türüne ait 2240 dışkı örneğinden izole ve tanımlanmış, her bir hayvan türü için 50 adet olmak üzere toplam 600 *E. coli* suşu kullanıldı. İzolatların 597 (%99.5)'si mannitol, 596 (%99.3)'sı MR, 575 (%95.8)'i indol, 539 (%89.8)'u arabinoz, 495 (%82.5)'i hareket, 217 (%36.1)'si dulcitol, 180 (%30)'i adenitol, 41 (%6.8)'i üreaz, 10 (%1.7)'u H<sub>2</sub>S, 3 (%0.5)'ü VP ve 2 (%0.3)'si de sitrat pozitif olarak belirlendi. İzole edilen suşların 127 (%21.2)'si ETEC, 58 (%9.7)'i VTEC, 56 (%9.3)'sı O157 serotipi, 56 (%9.3)'sı K99 antijeni pozitif, 22 (%3.7)'si O78:K80 ve 13 (%2.2)'ü de O1:K1 serotipi olarak değerlendirildi. Sonuç olarak, bu çalışma ile Van ve çevresinde memeli ve kanatlı orijinli *E. coli* suşlarının bazı toksijenik ve serotipik özellikleri ilk defa incelendi.

**Anahtar kelimeler:** Dışkı, *E. coli*, Enterotoksijenite, Serotiplendirme, Verotoksijenite.

### Determination of Biochemical, Enterotoxigenic and Verotoxigenic Properties of *Escherichia coli* Strains Isolated from Faeces of Healthy Animals

#### SUMMARY

The aim of this study was investigate the important biochemical properties of *E. coli* strains isolated from clinically healthy animal faeces in and around Van, and to examine their enterotoxigenic properties by rabbit ligated intestine test, their verotoxigenic properties by Vero cell culture assay and their serotypic properties by latex agglutination test, and to detect the differences and similarities between these characteristics according to animal species. In this study, a total of 2240 faeces taken from 12 different animal species were examined. Totally, 600 *E. coli* strains were isolated and identified. Of these strains 597 (99.5%) mannitol, 596 (99.3%) MR, 575 (95.8%) indole, 539 (89.8%) arabinose, 495 (82.5%) motility, 217 (36.1%) dulcitol, 180 (30%) adonitole, 41 (6.8%) urease, 10 (1.7%) H<sub>2</sub>S, 3 (0.5%) VP and 2 (0.3%) citrate were found to be citrate positive. Of these isolates 127 (21.2%) were found to be ETEC, 58 (9.7%) were found to be VTEC, 56 (9.3%) were found to be O157 serotype, 56 (9.3%) *E. coli* strains were found positive for K99 antigen, 22 (3.7%) isolates were found O78:K80 serotype and 13 (2.2%) *E. coli* strains were found O1:K1 serotype. As a result, with this study, some toxigenic and serotypic properties of *E. coli* strains isolated from different mammalian and avian animal species were examined for the first time in Van and around.

**Key words:** Faeces, *E. coli*, Enterotoxigenite, Serotype, Verotoxigenite.

### GİRİŞ

*Escherichia coli*, insan ve hayvanların normal barsak florasında bulunmakla birlikte, bir çok hastalık vakasından primer veya sekonder etken olarak izole edilmektedir. Bakteri sahip olduğu flagella, kapsül, hücre duvarı, fimbria antijenleri; sentezlediği kolisinler, enterotoksinler, sitotoksinler, hemolizinler ve aerobactin gibi virülens faktörleriyle hayvan türlerinde değişik patogeneze ile seyreden çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Bu hastalıklar arasında çeşitli septisemik, üriner sistem enfeksiyonları, enterik enfeksiyonlar ve mastitisler örnek olarak verilebilir (17,21).

*E. coli*'nin hayvan türlerine göre değişik serotiplere sahip olduğu ve bu serotiplerin de farklı patojenik karakterler sergilediği bilinmektedir (4,35). Patojen serotipler arasında O157, O1:K1 ve O78:K80, patojenik suşlar arasında VTEC ve ETEC ile enterotoksijenik K99 antijeni sayılabilir.

*E. coli*'nin epidemiyolojisi üzerinde yapılan çalışmalarda, bakterinin hemen her ortamda bulunabileceği ve farklı çevre koşullarında uzun süre canlı kalabileceği bildirilmektedir. Suşlar arasında özellikle O157 serotipinin daha dayanıklı olduğu, dışkıda 50 gün, toprakta 130 gün canlı

kaldığı ve bu süre içinde infektivitesini koruduğu rapor edilmektedir (33). Etkenin insan ve diğer hayvanlara bulaştırılmasında, sığır ve koyun başta olmak üzere farklı çiftlik hayvanları, yabani ve evcil kanatlılar önemli rezervuar olarak kabul edilmektedir. Ayrıca çeşitli meyva sularının, iyi pişirilmeyen hamburger, sosis gibi et ürünlerinin, çiğ süt, yoğurt ve peynir gibi süt ürünlerinin, mezbaha atıkları ile kontamine suların, marul, patates, turp gibi sebzelerin özellikle patojen *E. coli* suşları için risk oluşturabileceği ifade edilmektedir (2,10,15,43).

Sağlıklı görünen hayvanlarda patojen *E. coli* suşlarının varlığının ve sıklığının ortaya konulması, taşıyıcı konumundaki hayvanlardan insanlara muhtemel bir bulaşmanın önüne geçilmesi açısından önemli görülmektedir (2,11,15). Bu konuyla ilgili çeşitli ülkelerde birçok çalışma rapor edilmektedir (6,7,22,25).

Bu çalışmada sığır, buzağı, koyun, kuzu, kedi, köpek, tavuk, hindi, devekuşu, bıldırcın, güvercin ve martı dışkılarından izole edilen *E. coli* suşlarının biyokimyasal özellikleri, enterotoksijenik ve verotoksijenik karakterleri, O1:K1, O78:K80 ve O157 serotipleri ile K99 antijeni varlığının belirlenmesi amaçlandı.

\*Bu çalışma, Prof. Dr. Banur BOYNUKARA'nın danışmanlığında, YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı desteği ile (Proje No: VF-2001-086) yapılmış olup, aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir.

**MATERYAL VE METOT****Materyal**

**E. coli Suşları:** Araştırmanın materyalini 12 farklı hayvan türüne ait dışkı örneklerinden izole edilen 50'şerden toplam 600 *E. coli* suşu oluşturdu. Dışkı örnekleri, sağlıklı görünen hayvanlardan ırk ve cinsiyetleri dikkate alınmaksızın Van ili ve ilçelerinden sağlandı (Tablo1).

**Besiyerleri:** Dışkı örneklerinden *E. coli* izolasyonu amacıyla Eosin Methylene Blue agar (EMB), MacConkey agar (MC), %5 koyun kanlı agar kullanıldı. Suşların identifikasyonunda Sorbitol MacConkey agar (SMCA),

Sulfid Indol-Motilite medium (SIM), Ürea agar base, Bacto Nitrat buyyon, Triple Sugar Iron agar (TSI), Methyl-Red Voges Proskauer medium (MR-VP), Simmons Citrate agar'dan yararlanıldı.

**Antiserumlar:** *E. coli* suşlarında O157 serotipinin belirlenmesi için O157 lateks aglütinasyon test kiti (Oxoid DR620M, UK), K99 antijeninin saptanmasında monoklonal fimbriyal K99 lateks aglütinasyon test kiti (Veterinary Laboratory Agency, 0261/01, UK), O1:K1 (Veterinary Laboratory Agency, PA0976, UK) ve O78:K80 (Veterinary Laboratory Agency, PA0977, UK) serotiplerinin belirlenmesinde her iki serotipe ait lateks aglütinasyon test kitleri kullanıldı.

Tablo 1. Dışkı örneklerinin toplandığı merkezler ve dışkı sayıları

Hayvan Türü	Merkezler (Dışkı Sayıları)			Toplam
Sığır	Özalp (50)	Van-Merkez (150)	Gürpınar (50)	250
Buzağı	Özalp (70)	Van-Merkez (80)	Gürpınar (30)	180
Koyun	Van Belediye Mezbahası (90)	Gevaş (50)	Gürpınar (50)	190
Kuzu	Van Belediye Mezbahası (20)	Gevaş (100)	Gürpınar (80)	200
Kedi	Van Kedisî Araş. Merk. (80)	Van-Merkez (80)	-	160
Köpek	Kampüs (30)	Van-Merkez (70)	-	100
Tavuk	Vangözü Tavukçuluk (100)	Van-Merkez (100)	Gevaş (30)	230
Hindi	Van-Et (100)	Van-Merkez (70)	-	170
Bıldırcın	Van-Merkez (120)	-	-	120
Devekuşu	Vangözü Devekuşu İşl. (130)	-	-	130
Güvercin	Van-Merkez (180)	-	-	180
Martı	Gevaş (130)	Erçek Gölü Civarı (100)	Van-Merkez (100)	330
<b>Toplam</b>				<b>2240</b>

**Hücre Kültürü:** İzole edilen *E. coli* suşlarının verotoksijenik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Vero hücre kültürü kullanıldı. Hücre kültürünün üretilmesinde %10'luk buzağı fetal serumu ve antibiyotik (streptomisin+penisilin) ilave edilen Eagle's Modifiye Essential medium (EMEM) kullanıldı.

**Deneme Hayvanları:** Araştırmada enterotoksijenite testinde kullanılan 1.5-2 kg ağırlığında, 30 Yeni Zelanda ırkı (*Cuniculus cuniculus*) tavşan, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneme Hayvanı Ünitesinden temin edildi.

**Referens E. coli Suşları:** Vero hücre kültüründe kontrol olarak kullanılan verotoksijenik *E. coli* H30 ve non-toksijenik *E. coli* A38 suşları, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür koleksiyonundan, tavşan ince barsak ligatür (enterotoksijenite) testinde kontrol olarak kullanılan *E. coli* B41 (O101: K99, Sta) ve *E. coli* K12 suşu, serotiplendirmede kullanılan O1:K1 ve O78:K80 suşları Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür koleksiyonundan sağlandı.

**Metot**

**İzolasyon ve İdentifikasyon:** Bu amaçla, hayvan türlerinden steril dışkı toplama kaplarına alınan dışkı örnekleri, %5 koyun kanlı agar, MC ve EMB agarlara ekilerek, 37°C'de, 18-20 saat inkübe edildi. *E. coli* şüpheli koloniler kanlı agarda saflaştırıldıktan sonra, alınan bir koloni, TSB'a ekildi. İzole edilen etkenlerin

identifikasyonları; Gram boyama, karbonhidrat fermentasyon testleri, H<sub>2</sub>S, indol, MR, VP ve NR gibi biyokimyasal özellikleri dikkate alınarak konvensiyonel yöntemlere göre gerçekleştirildi (21).

**Enterotoksijenite (Tavşan İnce Barsak Ligatür)**

**Testi:** İzole edilen *E. coli* suşlarının enterotoksijenik özellikleri Sedlock ve Deibel (37)'in bildirdikleri yöntemle göre tavşan ince barsak ligatür testi ile araştırıldı.

**Verotoksijenite Testi:** İzole edilen *E. coli* suşlarının verotoksijenik özellikleri, Vero hücre kültürü kullanılarak Blanco ve ark. (6)'nın bildirdikleri modifiye yöntemle göre incelendi.

**Serotiplendirme:** İzole edilen *E. coli* suşlarının patojen serotiplerini saptamak amacıyla O157, K99, O1:K1 ve O78:K80 lateks aglütinasyon test kitleri kullanıldı. Testler prospektüslerine uygun olarak yapıldı (2,3,9).

**İstatistiksel Analizler:** Enterotoksijenite, verotoksijenite ve serotiplendirme testlerinin sonuçları, ki-kare testi (41) ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

**BULGULAR**

**İzolasyon Sonuçları:** Sağlıklı görünen 12 farklı hayvan türüne ait 2240 dışkı örneği incelenerek, her bir hayvan türünden 50'şerden toplam 600 *E. coli* suşu izole edildi.

**Biyokimyasal Test Sonuçları:** İzole edilen toplam 600 *E. coli* suşundan 597 (%99.5)'si mannitol, 596

(%99.3)'sı MR, 575 (%95.8)'i indol, 539 (%89.8)'u arabinoz, 495 (%82.5)'i hareket, 217 (%36.1)'si dulcitol, 180 (%30)'i adenitol, 41 (%6.8)'i üreaz, 10 (%1.7)'u H<sub>2</sub>S, 3 (%0.5)'ü VP ve 2 (%0.3)'si de sitrat pozitif olarak belirlendi.

**Enterotoksijenite ve Verotoksijenite Test Sonuçları:** Enterotoksijenite ve verotoksijenite test sonuçları Tablo 2'de sunuldu. Enterotoksijenite testinde pozitiflik

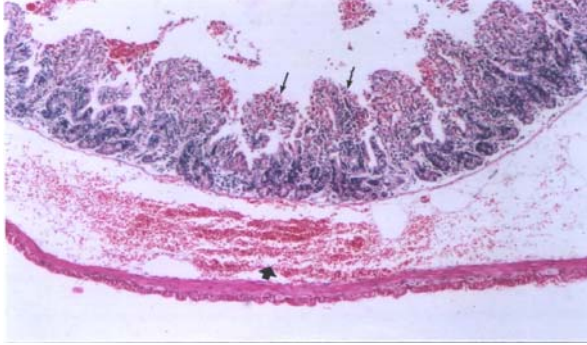
saptanan barsak kesiti ve negatif kontrol olarak kullanılan barsak kesitinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi Resim 1 ve Resim 2'de; verotoksijenite belirlenen hücre kültürü ve negatif kontrol hücre kültürü Resim 3 ve Resim 4'de gösterildi.

**Serotiplendirme Sonuçları:** İzole edilen *E. coli* suşlarının O157 serotipi, K99 antijeni, O1:K1 ve O78:K80 serotiplerine ait bulgular Tablo 3'de sunuldu.

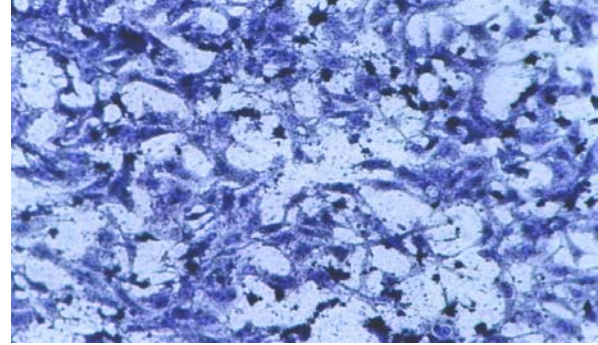
Tablo 2. *E. coli* suşlarının enterotoksijenite ve verotoksijenite test sonuçları

Hayvan Türü (n=50)	VTEC		ETEC	
	P (%)	N (%)	P (%)	N (%)
Sığır	4 (8)	46 (92)	12 (24)	38 (76)
Buzağı	10 (20)	40 (80)	16 (32)	34 (68)
Koyun	15 (30)	35 (70)	16 (32)	34 (68)
Kuzu	24 (48)	26 (52)	9 (18)	41 (82)
Kedi	0 (0)	50 (100)	7 (14)	43 (86)
Köpek	0 (0)	50 (100)	14 (28)	36 (72)
Tavuk	0 (0)	50 (100)	8 (16)	42 (84)
Hindi	0 (0)	50 (100)	8 (16)	42 (84)
Bıldırcın	0 (0)	50 (100)	13 (26)	37 (74)
Devekuşu	0 (0)	50 (100)	10 (20)	40 (80)
Güvercin	0 (0)	50 (100)	5 (10)	45 (90)
Martı	5 (10)	45 (90)	9 (18)	41 (82)
Toplam (600)	58 (9.7)	542 (90.3)	127 (21.1)	473 (78.9)

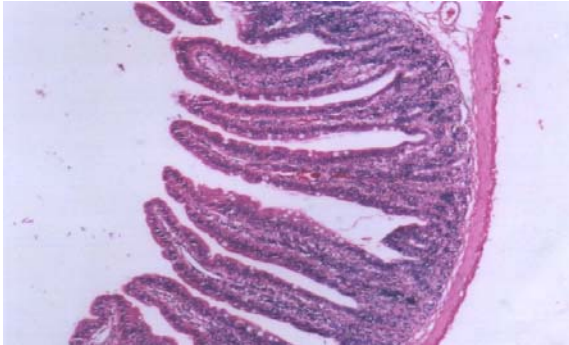
P: Pozitif, N: Negatif



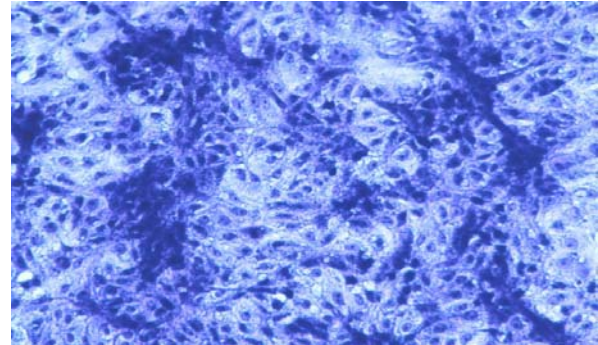
Resim 1. Tavşan ince barsak kesiti (enterotoksijenite pozitif kontrol jejunum x 80)



Resim 3. Vero hücre kültüründe oluşan dejeneratif değişiklikler (verotoksijenite pozitif x 80)



Resim 2. Tavşan ince barsak kesiti (negatif kontrol jejunum x 80)



Resim 4. Negatif kontrol Vero hücre kültürü (x 80)

Tablo 3. İzole edilen *E. coli* suşlarının serotiplendirme sonuç ve oranları (%)

Hayvan Türü (n=50)	O157		K99		O1:K1		O78:K80	
	P (%)	N (%)	P (%)	N (%)	P (%)	N (%)	P (%)	N (%)
Sığır	6 (12)	44 (88)	8 (16)	42 (84)	1 (2)	49 (98)	2 (4)	48 (96)
Buzağı	9 (18)	41 (82)	13 (26)	37 (74)	0 (0)	50 (100)	3 (6)	47 (94)
Koyun	13 (26)	37 (74)	14 (28)	36 (72)	0 (0)	50 (100)	1 (2)	49 (98)
Kuzu	10 (20)	40 (80)	4 (8)	46 (92)	0 (0)	50 (100)	2 (4)	48 (96)
Kedi	1 (2)	49 (98)	3 (6)	47 (94)	0 (0)	50 (100)	1 (2)	49 (98)
Köpek	8 (16)	42 (84)	4 (8)	46 (92)	0 (0)	50 (100)	0 (0)	50 (100)
Tavuk	3 (6)	47 (94)	2 (4)	48 (96)	5 (10)	45 (90)	4 (8)	46 (92)
Hindi	0 (0)	50 (100)	1 (2)	49 (98)	3 (6)	47 (94)	5 (10)	45 (90)
Bıldırcın	2 (4)	48 (96)	0 (0)	50 (100)	1 (2)	49 (98)	2 (4)	48 (96)
Devekuşu	0 (0)	50 (100)	0 (0)	50 (100)	0 (0)	50 (100)	1 (2)	49 (98)
Güvercin	2 (4)	48 (96)	0 (0)	50 (100)	2 (4)	48 (96)	1 (2)	49 (98)
Martı	2 (4)	48 (96)	7 (14)	43 (86)	1 (2)	49 (98)	0 (0)	50 (100)
Toplam (600)	56 (9.3)	544 (90.7)	56 (9.3)	544 (90.7)	13 (2.2)	587 (97.8)	22 (3.7)	578 (96.3)

P: Pozitif, N: Negatif,

### TARTIŞMA VE SONUÇ

*Escherichia coli*, insan ve hayvanların çeşitli enfeksiyonlardan primer veya sekonder etken olarak sorumlu tutulmaktadır. Patojen *E. coli* suşlarını, apatojen suşlardan ayırt etmek için uzun yıllar yeterince güvenilir bir yöntem geliştirilememiştir. Bu durum *E. coli*'nin kontaminant bir bakteri olarak kabul edilmesine neden olmuş ve bu konu üzerinde fazlaca durulmamıştır. Daha güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi ile enfeksiyonlarda *E. coli* serotiplerinin rolü konusundaki araştırmalara hız verilmiş ve belirli serotiplerle hastalıklar arasında önemli ilişkilerin varlığı ortaya konulmuştur.

*E. coli*'nin biyokimyasal özellikleri incelendiğinde, suşlar arasında hayvan türlerine göre bazı farklılıklar olmakla birlikte, bu özellikler açısından genellikle bir homojenlik olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda izolatların büyük bir kısmının glikoz, mannitol, MR, NR ve indol pozitif; laktöz, üreaz, H<sub>2</sub>S, VP ve sitrat testlerinde negatif sonuç verdiği bildirilmektedir (1,12,13,18,19,23).

Sığırlarda yapılan bir çalışmada (12), izole edilen 181 *E. coli* suşunun tamamı glikoz, laktöz, mannitol, NR, MR, indol, 7 (%3.9)'si üreaz pozitif, 39 (%21.5)'u hareketli, tamamı H<sub>2</sub>S, VP ve sitrat aktiviteleri bakımından negatif olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada, izole edilen sığır orijinli 50 *E. coli* suşunun tamamı laktöz, sükröz, glikoz, mannitol fermentasyonu, NR, MR, 49 (%98)'ü indol, 45 (%90)'i arabinoz, 15 (%30)'i dulsitol, 13 (%26)'ü adenitol ve bir (%2) tanesi de H<sub>2</sub>S pozitif olarak belirlenirken, tamamı üreaz, VP ve sitrat aktivitesi bakımından negatif bulundu. Suşların 41 (%82) tanesi hareketli olarak bulundu.

İshalli buzağılardan izole edilen toplam 94 *E. coli* suşunun materyal olarak kullanıldığı araştırmada (18), izolatların tamamı glikoz, laktöz, mannitol, arabinoz, MR, 91 (%96.8)'i indol, 48 (%51.1)'i dulsitol, 17 (%18.1)'si adenitol pozitif, tamamı sitrat, H<sub>2</sub>S, üreaz ve VP testlerinde negatif, 86 (%91.4) suşun da hareketli olduğu bildirilmektedir. Bu araştırmada, buzağı orijinli suşların tamamının laktöz, sükröz, glikoz, mannitol fermentasyonu, NR, MR, indol, 46 (%92)'sinin arabinoz, 17 (%34)'sinin dulsitol, 15 (%30)'inin adenitol ve birinin (%2) de H<sub>2</sub>S pozitif olduğu, tamamının

üreaz, VP ve sitrat aktivitesi bakımından negatif olduğu tespit edildi. Ayrıca suşlardan 45 (%90)'i hareketli olarak saptandı.

Koyunlarda yapılan bir çalışmada (23), 196 *E. coli* suşunun tamamı glikoz ve indol, %99.5'i mannitol, %98.5'i laktöz, %96.5'i MR, %62.8'i dulsitol, %3.5'i VP pozitif, %97'si de hareketli olarak rapor edilmektedir. Bu çalışmada, koyun izolatlarının tamamı laktöz, sükröz, glikoz, mannitol fermentasyonu, NR, MR, indol, 44 (%88)'ü arabinoz, 17 (%30)'si adenitol ve 10 (%20)'ü dulsitol pozitif olarak belirlenirken, tamamı üreaz, VP, H<sub>2</sub>S ve sitrat aktivitesi bakımından negatif bulundu. Ayrıca suşlardan 42 (%84)'sinin hareketli olduğu tespit edildi.

Sağlıklı ve ishalleri kuzulardan izole edilen 200 *E. coli* suşunun materyal olarak kullanıldığı bir çalışmada (13), suşların tamamı glikoz, laktöz, indol, mannitol, NR ve MR testlerinde pozitif; H<sub>2</sub>S, üreaz, VP, sitrat testlerinde ise negatif bulunduğu, sağlıklı hayvanlardan izole edilen 69 (%69), ishalleri kuzulardan ise 77 (%77) suş hareketli olarak tespit edilgi bildirilmektedir. Bu araştırmada, kuzu orijinli suşların tamamının laktöz, sükröz, glikoz, mannitol fermentasyonu ile NR; 48 (%96)'inin MR, 47 (%94)'sinin arabinoz, 44 (%88)'ünün indol, 18 (%36)'inin adenitol, 16 (%32)'sinin dulsitol pozitif; tamamının üreaz, VP, H<sub>2</sub>S ve sitrat aktivitesi bakımından negatif olduğu tespit edildi. İzolatların 41 (%82)'inin hareketli olduğu belirlendi.

Arda ve ark. (1) septisemili piliçlerden izole ettikleri 20 *E. coli* suşunun tamamını laktöz, glikoz, mannitol, arabinoz, NR ve MR; 19 (%95)'ünü indol, 12 (%60)'sini dulsitol pozitif; tamamını H<sub>2</sub>S, üreaz, sitrat ve VP negatif, 15 (%75) suşu da hareketli olarak rapor etmektedirler. Bu çalışmada, tavuk izolatlarının tamamı laktöz, sükröz, glikoz, mannitol, NR, MR; 48 (%96)'i indol, 44 (%90)'ü arabinoz, 16 (%32)'si dulsitol, 12 (%24)'si adenitol, 2 (%4)'si de üreaz pozitif olarak bulunurken, tamamı VP, H<sub>2</sub>S ve sitrat negatif olarak belirlendi. Suşlardan 41 (%82)'inin hareketli olduğu saptandı.

Hindilerde yapılan bir çalışmada (19), 192 *E. coli* suşunun tamamının glikoz, mannitol, indol, NR, MR; 187 (%97)'sinin laktöz pozitif olduğu, 157 (%81.7) suşun da hareketli olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada, hindilerden izole edilen suşların tamamının laktöz, sükröz, glikoz, NR, MR; 49 (%98)'unun mannitol, 47 (%94)'sinin indol, 43

(%86)'ünün arabinoz, 18 (%36)'sinin adenitol, 13 (%26)'ünün üreaz, 12 (%24)'sinin dulsitol, 3 (%6)'ünün de VP pozitif, tamamının H<sub>2</sub>S ve sitrat negatif olduğu belirlendi. İzolatlardan 36 (%72)'si hareketli olarak tespit edildi.

Bu çalışmada belirlenen biyokimyasal test sonuçları, genel olarak diğer araştırmacıların (1,12,13,18,19,23) test sonuçlarıyla paralellik gösterdi. Ancak, Colombo ve ark. (12)'nin sığırlardan izole ettikleri *E. coli* suşlarının (%21.5) bu çalışmaya göre (%82) çok daha az oranda hareketli oldukları tespit edildi. Bu çalışmada hareketliliğin belirlenmesinde yarı katı besiyerinde (SIM) üreme, lam-lamel arası hareket muayenesi ve asılı damla teknikleri birlikte kullanıldı ve her üç testte pozitif sonuç veren suşlar hareketli olarak kabul edildi. Ayrıca, söz konusu çalışmanın aynı özellik bakımından diğer araştırmalardan (1,13,18,23) da oldukça düşük oranda olduğu görüldü.

Son yıllarda hayvanlardan izole edilen *E. coli* suşlarının identifikasyonları genellikle ticari kitlerle yapılmaktadır (10,33,34). Yapılan literatür incelemelerinde, kedi, köpek, bildircin, devekuşu, güvercin ve martılardan izole edilen *E. coli* suşlarının biyokimyasal özelliklerinin ayrıntılı olarak ele alındığı çalışmalara rastlanılmadığı için bu hayvan türlerine ait biyokimyasal test sonuçları literatür verileri ile tartışılmadı.

Enterik enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının enterotoksijenik ve enteropatojenik karakterleri tavşan, buzağı, köpek ve domuz ince barsak ligatür testleri, tavşan vasküler permeabilite testi, İFT, DNA prob tekniği, doku ve hücre kültürleri (Vero, Y-1, CHO), lateks aglutinasyon testi, ELISA, RIA ve farklı PZR teknikleri ile ortaya konulabilmektedir (3,9,32,38,39).

Bu amaçla yapılan çalışmalarda; Carrol ve ark. (9) sığır orijinli 55 *E. coli* suşundan 16 (%29.1)'sini, Sihvonen ve Miettien (39) buzağılardan izole ettikleri 231 suşun 65 (%28.1)'ini, Blanco ve ark. (3) kuzu orijinli 144 izolatın 2 (%1.4)'sini, Masalmeh ve ark. (27) kedilerden izole ettikleri 105 suştan 15 (%14.2)'ini, Starčić ve ark. (38) köpek orijinli 24 *E. coli* suşundan 4 (%16.7)'ünü, Orhan ve ark. (32) tavuklardan izole ettikleri 36 izolatın 6 (%16.7)'sini ve bildircin orijinli 30 *E. coli* suşundan 8 (%26.7)'ini, Emery ve ark. (17) da hindilerden izole ettikleri 42 *E. coli* suşundan 24 (%5.7)'ünü enterotoksijenik olarak rapor etmektedirler.

Bu çalışmada, sığırlardan izole edilen suşlardan 12 (%24)'si, buzağılardan 16 (%32)'si, kuzulardan 9 (%18)'u, kedilerden 7 (%14)'si, köpeklerden 14 (%28)'ü, tavuklardan 8 (%16)'i, hindilerden 8 (%16)'i ve bildircin orijinlilerden de 13 (%26)'ü ETEC olarak bulundu.

*E. coli* suşlarında belirlenen ETEC izolasyon oranları hayvan türlerine göre ayrı ayrı değerlendirildiğinde, çalışma sonuçları diğer araştırma sonuçları ile farklılık göstermektedir. Bu durum, çalışmanın sağlıklı hayvanlarda gerçekleştirilmiş olması, bazı çalışmalarda enterotoksijenite testi olarak İFT (9,17)'nin bu çalışmada ise ince barsak ligatür testinin kullanılmış olması, araştırmaların farklı coğrafik bölgelerde yapılmış olması (3,9), kullanılan materyal sayılarının yüzde olarak oranlar üzerinde (3,39,40) etkisi ile açıklanabilir.

Verotoksijenik *E. coli* suşlarının tespitinde Vero, HeLa ve Y1 hücre kültürü teknikleri, DNA hibridizasyon metodu, farklı elektroforez yöntemleri, PZR ve ELISA teknikleri kullanılmaktadır (2,6,35,36,43).

VTEC'lerle ilgili yapılan çalışmalarda; Blanco ve ark. (6) sığır orijinli 197 izolatın 17 (%8.6)'sini, Sanz ve ark. (36) buzağılardan izole ettikleri 43 suşun 10 (%23.2)'unu, Bettelheim ve ark. (2) koyun orijinli 101 *E. coli*'den 46 (%45.5)'sini, Samadpour ve ark. (35) kuzulardan izole ettikleri 21 *E. coli*'den 10 (%48)'unu, Morabito ve ark. (30) güvercin orijinli 649 izolatın 70 (%10.8)'ini, Wallace ve ark. (43) martı dışkılarından izole ettikleri 691 *E. coli* suşundan 62 (%8.9)'sini verotoksijenik olarak bildirmektedirler. Masalmeh ve ark. (27) kedi orijinli 105 izolatın, Drolet ve ark. (16) köpeklerle ait nekrops materyallerinden ürettikleri 13, Irwin ve ark. (22) tavuklardan izole ettikleri 220, Emery ve ark. (17) hindilerden ürettikleri 420, Knöbl ve ark. (24) deve kuşlarından izole ettikleri 8 *E. coli* suşunun tamamını verotoksijenite bakımından negatif bulduklarını rapor etmektedirler.

Bu çalışmada, sığır orijinli suşlardan 4 (%8)'ü, buzağılardan 10 (%20)'u, koyunlardan 15 (%30)'i, kuzulardan 24 (%48)'ü ve martılardan da 5 (%10)'i verotoksijenik olarak bulundu.

Verotoksijenite ile ilgili olarak bu çalışmada incelenen hayvan türleri dikkate alındığında, VTEC izolasyon oranlarının genel olarak diğer araştırmalarla (6,16,17,43) uyumlu, bazılarında (2,35) ise daha düşük olduğu görüldü. VTEC'lerin hastalık semptomları gösteren hayvanlardan, klinik olarak sağlıklı olanlara göre daha yüksek oranlarda izole edilmesi (12,34) bu araştırmanın sonucunu desteklemektedir. Ayrıca VTEC suşlarının belirlenmesinde ELISA, PZR, koloni hibridizasyon tekniği ve DNA prob analizi (2,35) gibi değişik metodların kullanılması, konuyla ilgili farklı sonuçların elde edilmesini etkileyen bir faktör olarak düşünülebilir.

*E. coli* O157 serotipinin çeşitli karkas örneklerinden, değişik gıdalardan, sağlıklı ve hasta hayvanların dışkılarından izolasyonu amacıyla çok sayıda çalışma bildirilmektedir (4,11,15,26,27).

Chapman ve ark. (11) sığır orijinli 4800 *E. coli* suşundan 620 (%12.9)'sini, Solmaz ve ark. (40) buzağılardan izole ettikleri 83 suşun 24 (%28.9)'ünü, Meng ve ark. (39) koyun orijinli 15 izolatın 7 (%46.6)'sini, Masalmeh ve ark. (27) köpek orijinli 176 *E. coli* suşundan 3 (%1.7)'ünün O157 serotipi olduğunu, kedi orijinli 105 izolatın ise tamamını bu serotip açısından negatif olduğunu rapor etmektedirler. Kanatlılarda yapılan benzer çalışmalarda, Wallace ve ark. (43) martı orijinli 691 *E. coli* suşundan 13 (%1.9)'ünün O157 serotipi olduğunu, Blanco ve ark. (4) tavuklardan izole ettikleri 625, Ley ve ark. (26) devekuşu orijinli 116, Dell'Omo ve ark. (15) güvercinlerden izole ettikleri 160 *E. coli* suşunun tamamının O157 serotipi yönünden negatif bulduklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, sığırlardan izole edilen 6 (%12), buzağılardan 9 (%18), koyunlardan 13 (%26), kedilerden bir (%2), köpeklerden 8 (%16), tavuklardan 3 (%6), güvercin ve martılardan da 2 (%4) suş O157 serotipi olarak saptanırken, devekuşu orijinli suşların tamamı O157 serotipi bakımından negatif bulundu.

*E. coli* suşlarında belirlenen O157 serotipi oranları, hayvan türlerine göre değerlendirildiğinde çalışma bulgularının birbirinden farklı olması, *E. coli* suşlarındaki serotipik yapının bölgesel ve ülkesel olarak değişebileceği

(39,43) ve kullanılan metotların farklı olmasından kaynaklanabileceği (15,27,40) görüşünü desteklemektedir.

*E. coli* suşlarında fimbrial antijenlerin tespitinde koagülasyon, ELISA ve daha yaygın olarak lateks aglütinasyon tekniği kullanılmaktadır (25,42).

*E. coli* suşlarında K99 antijeninin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda; Lee ve Cho (25) sığırlardan izole ettikleri 261 *E. coli* suşunun 49 (%18.7)'ünü, Boynukara ve ark. (7) buzağı orijinli 41 *E. coli* suşunun 11 (%26.8)'ini, Thorns ve ark. (42) koyunlardan izole ettikleri 18 *E. coli* suşundan 4 (%22.2)'ünü, Orden ve ark. (31) kuzu orijinli 580 suştan 2 (%0.3)'sini, Masalmeh ve ark. (27) kedi orijinli 105 izolattan 5 (%4.8)'ini ve köpeklerden izole ettikleri 176 *E. coli* suşundan 6 (%3.4)'sini, Orhan ve ark. (32) tavuk orijinli 36 izolattan 5 (%13.8)'ini ve bildircinlara ait 30 izolattan 3 (%10)'ünü K99 pozitif olarak belirlemişlerdir.

Bu çalışmada, sığır orijinli suşlardan 8 (%16)'i, buzağılardan 13 (%26)'ü, koyunlardan 14 (%28)'ü, kuzu ve köpeklerden 4 (%8)'ü, kedilerden 3 (%6)'ü, tavuklardan 2 (%4)'si K99 pozitif olarak bulundu.

Hayvan türleri ayrı ayrı ele alındığında, K99 pozitif *E. coli* suşlarının izolasyon oranlarında bu çalışma ve diğer bazı araştırma sonuçları (27,31,32) arasında farklılıklar görülmektedir. Bu durumun, izolatların sağlıklı ya da hasta hayvanlardan sağlanmış olması, suşların laboratuvar şartlarında saklanmaları esnasında K99 fimbria sentezinden sorumlu plazmidlerini kaybetmeleri (25,42) ve teşhiste farklı metotların (27,31) kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Memeli ve kanatlı hayvan türlerinden izole edilen *E. coli* suşlarında O1 ile K1 (O1:K1) ve O78 ile K80 (O78:K80) serotiplerinin birlikte incelendiği çalışma sayısı oldukça sınırlıdır (5,14,18,20). Gerek memeli gerekse kanatlı hayvan türlerinde konuyla ilgili yapılan çalışmalarda daha çok bu serotiplerin O1, K1, O78, ve K80 olarak ayrı ayrı incelendiği görülmektedir (3,4,6)

Erganiş ve ark. (18), ishali buzağılardan izole ettikleri 94 *E. coli* suşundan 4 (%4.6)'ünü O78:K? serotipi olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada, buzağılardan izole edilen 50 *E. coli* suşunun 3 (%6)'ü O78:K80 serotipi olarak belirlendi. Bu sonucun Erganiş ve ark. (18)'nin bulgusundan yüksek olduğu görülmektedir.

İshali kuzularda yapılan bir çalışmada (14), izole edilen 58 *E. coli* suşundan 3 (%5.2)'ünün O78:K? serotipi olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, kuzu orijinli 50 *E. coli* suşundan 2 (%4)'si O78:K80 serotipi olarak bulundu. Bu sonucun, Çorlu ve ark. (14)'nin bildirdiklerine benzerlik gösterdiği görüldü.

Blanco ve ark. (5), tavuk orijinli 458 *E. coli* suşundan 3 (%0.7)'ünü O1:K1, 9 (%10.8)'ünü da O78:K80 serotipi olarak saptamışlardır. Erganiş ve ark. (20) ise tavuk orijinli 113 *E. coli* izolattan 13 (%11.5)'ünü O1:K?, 29 (%25.6)'ünü da O78 serotipi olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, tavuklardan izole edilen 50 *E. coli* suşundan 5 (%10)'i O1:K1, 4 (%8)'ü O78:K80 serotipi olarak değerlendirildi. Araştırmada tespit edilen O1:K1 serotipi oranı Erganiş ve ark. (20)'nin, O78:K80 serotipi oranı ise Blanco ve ark. (5)'nin verileri ile uyumlu bulundu.

Bu çalışmada hindi 3 (%6), güvercin 2 (%4), sığır, bildircin ve martı orijinli bir adet (%2) *E. coli* suşu O1:K1

serotipi pozitif olarak belirlenirken, buzağı, koyun, kuzu, kedi, köpek ve devekuşu izolatlarının bu serotip açısından negatif oldukları saptandı. Yapılan literatür incelemelerinde, bu hayvanlarda *E. coli* O1:K1 serotipinin araştırıldığı çalışmalara rastlanılmadığı için sonuçlar tartışılmadı. Kanatlı hayvanlarda septisemik hastalıklardan izole edilen en önemli *E. coli* serotipinin O1:K1 olduğu ve memeli hayvanlardan kanatlılara oranla daha az izole edildiği bildirilmektedir (3,5,20). Bu çalışmada, memeli izolatlarında sadece sığır orijinli bir suş olmak üzere %0.6 oranında *E. coli* O1:K1 serotipi pozitif bulunurken, bu oran kanatlı izolatlarında %4 olarak saptanmıştır ve bulgular diğer araştırma (3,5,20) sonuçları ile uyumluluk göstermektedir.

İzolatlarda O78:K80 serotipinin varlığı incelendiğinde; hindilerden izole edilen 5 (%10), sığır ve bildircinlerden 2 (%4), koyun, kedi, devekuşu ve güvercinlerden ise bir (%2) suşun pozitif olduğu görüldü. Köpek ve martı orijinli *E. coli* suşlarının tamamı O78:K80 serotipi açısından negatif bulundu. Sığır, koyun, kedi, köpek, hindi, bildircin, devekuşu, güvercin ve martılarda O78:K80 serotipinin incelendiği araştırmalara rastlanılmadığı için sonuçları tartışmak mümkün olmadı. *E. coli* O78:K80 serotipinin kanatlı hayvanlardan memeli hayvanlara oranla daha fazla izole edildiği bildirilmektedir (5,14,18,20). Çalışmada; memeli orijinli *E. coli* suşlarında %3, kanatlı izolatlarında ise %4.3 oranında O78:K80 serotipi bulundu ve sonuçların diğer literatür (5,14,18,20) verilerini destekler nitelikte olduğu görüldü.

Bu araştırma sonucunda, sağlıklı hayvanlardan izole edilen *E. coli* suşlarının biyokimyasal özellikleri arasında önemli farklılıkların olmadığı ve patojen *E. coli* suşları ile apatojen suşların sadece biyokimyasal özellikleri dikkate alınarak hayvan edilemeyeceği bir kez daha teyid edildi. Memeli hayvanlardan izole edilen suşların kanatlı hayvan türlerine göre daha fazla enterotoksijenik oldukları belirlendi. Sağlıklı hayvanlarda VTEC taşıyıcılığının yüksek oranda belirlenmesi (%9.7), evcil hayvanlar ile martı gibi yabancı kanatlıların bu etkenleri insanlara bulaştırmada önemli rolü olabileceğini düşündürdü. Bu konunun aydınlatılması için daha çok sayıda hayvan üzerinde yapılacak epidemiyolojik çalışmalara gerek olduğu kanısına varıldı. Sonuç olarak, Van ve yöresinde yapılan bu çalışma ile sağlıklı görünen hayvanların dışkılarından izole edilen *E. coli* suşlarının biyokimyasal, enterotoksijenik, verotoksijenik özellikleri ile patojenitede oldukça önemli olan K99 antijeni, O157, O1:K1 ve O78:K80 serotiplerinin varlığı aynı çalışmada ortaya konuldu. İçerik olarak Türkiye'de ilk defa yapılan bu araştırma sonuçlarının bundan sonra yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağı umulmaktadır.

## KAYNAKLAR

**1.Arda M, İzgür M, Akay Ö, (1984):** Septisemili piliçlerden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının bazı biyokimyasal ve patojenite özellikleri üzerinde bir araştırma. Ankara Üniv Vet Fak Derg., 30: 407-419.

**2.Bettelheim KA, Bensink JC, Sidjabat-Tambunan H, (2000):** Serotypes of verotoxin-producing (shiga toxin producing) *Escherichia coli* isolated from healthy sheep. Comp. Immunol. Microbiol. & Infect. Dis., 23: 1-7.

- 3. Blanco J, Cid D, Blanco JE, Blanco M, Ruiz Santa Quiteira JA, Fuente R, (1996):** Serogroups, toxins and antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from diarrhoeic lambs in Spain. *Vet. Microbiol.*, 49: 209-217.
- 4. Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J, (1997):** Production of toxins (enterotoxins, verotoxins and necrotoxins) and colicins by *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens: Relationship with in vivo pathogenicity. *J. Clin. Microbiol.*, 35, 11: 2953-2957.
- 5. Blanco JE, Blanco M, Mora A, Jansen WH, García V, Vázquez ML, Blanco J, (1998):** Serotypes of *Escherichia coli* isolated from septicaemic chickens in Galicia (Northwest Spain). *Vet Microbiol.*, 61: 229-235.
- 6. Blanco M, Blanco J, Blanco JE, Ramos J, (1993):** Enterotoxigenic, verotoxigenic and necrotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cattle in Spain. *Am. J. Vet. Res.*, 54, 9: 1446-1451.
- 7. Boynukara B, Akgül Y, Solmaz H, Aksakal A, (2000):** Yeni doğan buzağuların dışkılarında *Escherichia coli* ve *Escherichia coli* K99'un varlığı ile neonatal buzağı ishallerinin önlenmesinde oral spektinomisin (*pentahidrat dihidroklorit*)'in etkisi. *Bültendif*, 14: 2-5.
- 8. Boynukara B, Çabalar M, Gülhan T, Aslan S, (2000):** Van kedilerinde *Escherichia coli* K99 ve Rotavirusun varlığı üzerine araştırmalar. 1. Ulusal Küçük Hayvan Hekimliği Kongresi, (6-9 Eylül), Bursa.
- 9. Carroll PJ, Woodward MJ, Wray C, (1990):** Detection of LT and STIa toxins by latex and EIA tests. *Vet. Rec.*, 127: 335-336.
- 10. Chapman PA, (2000):** Methods available for the detection of *Escherichia coli* O157 in clinical, food and environmental samples. *World J Microbiol & Biotechnol.*, 16: 733-740.
- 11. Chapman PA, Cerdán Malo AT, Ellin M, Ashton R, Harkin MA, (2001):** *Escherichia coli* 157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire UK. *Int. J. Food Microbiol.*, 64: 139-150.
- 12. Colombo S, Pacciarini ML, Fusi P, (1998):** Isolation of a new phenotypic variant of *Escherichia coli* O157:H7 from food. *Vet. Rec.*, 142: 144-145.
- 13. Çorlu M, (1988):** Sağlıklı ve ishalleri kuzulardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarının biyokimyasal, kolisinojenik ve mannoz rezistan hemagglütinasyon özellikleri üzerinde incelemeler. *S Üniv Vet Fak Derg.*, 4: 90-108.
- 14. Çorlu M, Ateş M, Erganiş O, Kaya O, (1990):** Konya bölgesindeki ishalleri kuzulardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarının çeşitli özellikleri üzerinde incelemeler. *Tr J Vet Anim Sci.*, 14: 126-133.
- 15. Dell'Omo G, Morabito S, Quondam R, Agrimi U, Ciuchini F, Macri A, Caprioli A, (1998):** Feral pigeons as a source of verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Vet. Rec.*, 142: 309-310.
- 16. Drolet R, Fairbrother JM, Harel J, Hélie P, (1994):** Attaching and effacing and enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with enteric colibacillosis in the dog. *Can. J. Vet. Res.*, 58: 87-92.
- 17. Emery DA, Nagaraja KV, Shaw DP, Newman JA, Eells DG, (1992):** Virulence factors of *Escherichia coli* associated with colisepticemic chickens and turkeys. *Avian Dis.*, 36: 504-511.
- 18. Erganiş O, Ateş M, Kaya O, Çorlu M, (1989):** Konya bölgesindeki ishalleri buzağulardan izole edilen *Escherichia coli*'lerin biyokimyasal, serolojik, hemagglütinasyon, mannoz rezistan hemagglütinasyon ve enteropatogenik özellikleri üzerinde araştırmalar. *Doğa Tr Vet Hay Derg.*, 13: 108-122.
- 19. Erganiş O, (1991):** Hindilerin fekal florasyndan izole edilen *Escherichia coli* suşlarının bazı patojenite özellikleri üzerinde incelemeler. *Veterinarium*, 3: 2-12.
- 20. Erganiş O, Orhan G, Kaya O, Uçan S, Kuyucuoğlu Y, (1992):** Kolibasillozisli tavuklardan izole edilen *Escherichia coli*'lerde Tip 1 pilus tiplendirmesi. *Veterinarium*, 3: 7-12.
- 21. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST, (1994):** *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9<sup>th</sup> Ed., Williams and Wilkins, Baltimore USA.
- 22. Irwin RJ, McEwen SA, Clarke RC, Meek AH, (1989):** The prevalence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* and antimicrobial resistance patterns of nonverocytotoxin-producing *Escherichia coli* and salmonella in Ontario broiler chickens. *Can. J. Vet. Res.*, 53: 411-418.
- 23. İzgür M, İstanbulluoğlu E, (1982):** Sağlıklı koyunlardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarının çeşitli özellikleri üzerinde incelemeler. *Doğa Bilim Derg.*, 6: 29-34.
- 24. Knöbl T, Baccaro MR, Moreno AM, Gomes TAT, Vieira MAM, Ferreira CSA, Ferreira AJP, (2001):** Virulence properties of *Escherichia coli* isolated from ostriches with respiratory disease. *Vet. Microbiol.*, 83: 71-80.
- 25. Lee GL, Cho UP, (1986):** Enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cattle. *Korean J. Vet. Res.*, 26, 1: 69-77.
- 26. Ley EC, Morishita TY, Brisker T, Harr BS, (2001):** Prevalence of Salmonella, Campylobacter, and *Escherichia coli* on ostrich carcasses and the susceptibility of ostrich-origin *Escherichia coli* isolates to various antibiotics. *Avian Dis.*, 45: 696-700.
- 27. Masalmeh MA, Youssef U, Silber R, (1990):** Characterization of hemolytic *Escherichia coli* isolated from diarrhoeic dogs and cats. *Wien Tierärztl. Mschr.*, 77: 254-258.
- 28. Meng J, Zhao S, Doyle MP, (1998):** Virulence genes of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from food, animals and humans. *Int. J. Food Microbiol.*, 45: 229-235.
- 29. Miyao Y, Kataoka T, Nomoto T, Kai A, Itoh T, Itoh K, (1998):** Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* harbored in the intestine of cattle in Japan. *Vet. Microbiol.*, 61: 137-143.
- 30. Morabito S, Dell'Omo G, Agrimi U, Schmidt H, Karch H, Cheasty T, Caprioli A, (2001):** Detection and characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in feral pigeons. *Vet. Microbiol.*, 82: 275-283.
- 31. Orden JA, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Cid D, Fuente RD, (2002):** Presence and enterotoxigenicity of F5 and F41 *Escherichia coli* strains isolated from diarrhoeic small ruminant in Spain. *Small Rum. Res.*, 44: 159-161.
- 32. Orhan B, İşcan D, Keser K, (1998):** Kanatlılardan izole edilen *Escherichia coli*'lerin enterotoksinleri ve adhesinlerinin (K99, K88, F41, 987, P ve Tip 1 fimbria) tespiti. *Tarım Araştırma Özetleri*. TAGEM, No 1. Ankara.

**33.Parma AE, Sanz ME, Blanco JE, Blanco J, Viñas MR, Blanco M, Padola NL, Etcheverria AI, (2000):** Virulence genotypes and serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cattle and foods in Argentina. Eur J Epidemiol., 16: 757-762.

**34.Parreira VR, Gyles CL, (2002):** Shiga toxin genes in avian *Escherichia coli*, Vet. Microbiol., 87: 341-352.

**35.Samadpour M, Ongerth JE, Liston J, Tran N, Nguyen D, Whittam TS, Wilson RA, Tarr PI, (1994):** Occurrence of shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* in retail fresh seafood, beef, lamb, pork and poultry from grocery stores in Seattle, Washington. Appl. Environ. Microbiol., 60, 3: 1038-1040.

**36.Sanz ME, Viñas MR, Parma AE, (1998):** Prevalence of bovine verotoxin-producing *Escherichia coli* in Argentina. Eur. J. Epidemiol., 14: 399-403.

**37.Sedlock DM, Deibel RH, (1978):** Detection of salmonella enterotoxins using rabbit ileal loops. Can. J. Microbiol., 24: 267-273.

**38.Starčič M, Johnson JR, Stell AL, Goot J, Hendriks HG, Vorstenbosch C, Dijk L, Gastra W, (2002):** Haemolytic *Escherichia coli* isolated from dogs with diarrhea have characteristics of both uropathogenic and necrotoxicogenic strains. Vet. Microbiol., 85: 361-377.

**39.Sihvonen L, Miettinen P, (1985):** Rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli* infections of calves on a closed Finnish dairy farm. Acta Vet. Scand., 26: 205-217.

**40.Solmaz H, Aksakal A, Kaya A, (2000):** Neonatal buzağlardan izole edilen *Escherichia coli*'lerin bazı özellikleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Hayvancılık Araştırma Derg., 10, 1-2: 47-50.

**41.Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V, (1997):** Biyoistatistik, 7. Baskı. 156-159. Hatiboğlu Yayıncılık, Ankara.

**42.Thorns CJ, Sojka MG, Roeder PL, (1989):** Detection of fimbrial adhesins of ETEC using monoclonal antibody-based latex reagents. Vet. Rec., 125: 91-92.

**43.Wallace JS, Cheasty T, Jones K, (1997):** Isolation of Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from wild birds. J. Appl. Microbiol., 82: 399-404.