HİNDİLERİN FEKAL FLORASINDAN İZOLE EDİLEN E.COLİ SUŞLARININ BAZI PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDE İNCELEMELER

DOKTORA TEZİ

Osman ERGANİŞ
Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

KONYA - 1987

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

LİTERATÜR BİLGİSİ 1

MATERYAL VE METOT 21

BULGULAR 28

TARTIŞMA VE SONUÇ 46

ÖZET 57

İNGİLİZCE ÖZET 59

KAYNAKLAR 61

ÖZGEÇMİŞ 76

TEŞEKKÜR..... 77

ÖNSÖZ

İnsan ve hayvanların barsak floralarında yaşayan ve normalde saprofitik karakterde olan bazı Escherichia coli'lerin, belirli şartlar altında enterik veya septisemik karakterde enfeksiyonlara neden oldukları bilinmektedir.

İntensif yetiştiriciliği yaygın olarak yapılan kanatlı populasyonlarında mikrobiyal etkenlerin fazla oranlarda morbidite ve mortaliteye sebep oldukları belirlenmiştir.Yurdumuzda koli enfeksiyonlarının kanatlı populasyonunda sebep olduğu ekonomik kayıplar kesin olarak bilinmemesine rağmen,bölgemizde yapılan ön çalışmalardan E.coli enfeksiyonlarının primer veya sekonder etken olarak birinci sırayı aldığı anlaşılmıştır.Bu nedenlerle erişkin kanatlıların barsak sistemlerinde barınan E.coli'lerin,enteropatojenik,enterotoksijenik ve invaziv karakterlerinin tespit edilmeleri,etkenin epizootiyolojisi yönünden önem arzetmektedir.Patojenite kriteri olarak kabul edilen bazı in vivo ve in vitro uygulanan metotların,rutin olarak her laboratuvarda uygulanamamaları,araştırıcıları basit,güvenilir ve ekonomik olan metotların araştırılmasına yöneltmektedir.Enfekte insan ve hayvan materyallerinden izole edilen E.coli'lerin,mannoz rezistan hemagglutinasyon(MRHA),mannoz sensitiv hemagglutinasyon(MSHA),in vitro olarak çeşitli epitel hücrelerine adhezyon ve hidrofobik özellikleri ile biyokimyasal,enterotoksijenik ve patojenik karakterleri arasındaki ilişkileri inceleyen araştırmalar çok sayıda bulunmasına rağmen,hindi ve kanatlı orijinli E.coli'lerde bu gibi araştırlara pek rastlanamamıştır.

Bu çalışmanın amacı,188'i sağlıklı,4'ü septisemili hindilerden izole edilen 192 E.coli suşunun MSHA,MRHA,adhezyon, salt aggregasyon(SAT),serum rezistan (SR),kolisin ve hemolizin gibi in vitro özellikleri ile in vivo uygulanan patojenik,enteropatojenik ve enterotoksijenik karakterlerini incelemektir.

LİTERATÜR BİLGİSİ

Escherichia coli'ler,doğada yaygın olarak bulunan ve belirli şartlar altında normal barsak florası olarak bilinen bakteriler arasında sayılmalarına rağmen,insan ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olurlar.

Erişkin insan ve hayvanların barsak sistemlerinde bulundukları sürece genellikle enfeksiyon oluşturmayan E.coli'ler,Proteus ssp. gibi kokuşma bakterileri üzerine antagonistik etkileri ile konakçı organizmaya yardımcı olurlar(143).Üriner sistem,periton, meme,uterus,beyin zarları,pleura gibi ekstraintestinal doku veya organlara invaze oldukları zaman mutlaka enfeksiyon oluştururlar (1,4,13,23,61,124).

E.coli'nin ilk olarak 1885 yılında Escherich tarafından enfekte bir çocuğun dışkısından izole edildiği ve bakteriye "Bacterium coli commune" adı verildiği bildirilmektedir(24,27,29,93). Bakteriye "Escherichia coli" adı,1919'da Castelani ve Chalmers tarafından Escherich'in adına izafeten verilmiştir(27).İstanbulluoğlu(83),mikroorganizmanın enfeksiyon etkeni olduğunun 1891 yılında ilk kez Jensen tarafından ortaya konduğunu,araştırıcının "Kalberruhr" adını verdiği buzağı ishallerini yapan etkenin, E.coli olduğunu savunduğunu ve mikroorganizmanın bazı türlerinin patojen,bazılarının ise saprofit karakterde olabileceğini buzağılara oral yolla E.coli kültürleri vererek gösterdiğini bildirmektedir.

Sojka ve Carnaghan (152)'nın bildirdiğine göre;kanatlılarda E.coli'nin enfeksiyon etkeni olduğu,ilk kez 1889 yılında Klein tarafından ileri sürülmüştür.Lignieres 1894'de,E.coli'nin kanatlılarda patojen olabileceğini,kuşlar ve güvercinlerde deneyerek göstermiştir.Martel ise 1897 yılında bakterinin tavuk ve hindilerde perikarditis ve perihepatitisle seyreden enfeksiyonlara neden olduğunu bildirmiştir.Dawson 1898'de,tavuklarda E.coli'nin neden olduğu,kronik seyreden ve "Enfeksiyöz Asteni" olarak tanımladığı salgın bir enfeksiyonu rapor etmiştir.Palmer ve Baker ise,piliçlerde,hindilerde ve ördeklerde enfeksiyöz enteritis ile seyreden epizootik bir enfeksiyondan E.coli izole etmişlerdir. Claussen 1907'de tavuklarda kolera benzeri bir sendromla seyreden

enfeksiyondan E.coli'nin sorumlu olduğunu bakterinin ;açlık, soğuk,havalandırma bozukluğu gibi tavukların doğal dirençlerini bozan şartlarda,barsaklardan kan dolaşımına invaze olarak septisemilere neden olabileceğini bildirmiştir.Hadley ve Amidon 1911 yılında,mikroorganizmanın tavuklarda hemorajik enteritis ile seyreden bir hastalığın etkeni olduğunu açıklamışlardır.Kanatlıların barsak ve karaciğerlerinde granülomatöz lezyonlarla karakterize enfeksiyonlardan E.coli izolasyonu ilk kez 1945'de Hjarre ve Wramby tarafından yapılmış,kanatlılarda enfeksiyon oluşturan E.coli suşlarının 3 farklı serotipte olduğu ise ilk olarak 1948'de Wramby tarafından bildirilmiştir.Gross 1956'da,kanatlılarda perikarditis,perihepatitis ve hava keselerinin yangılanmasıyla karakterize kronik solunum sistemi hastalığının tek başına E.coli ve PPLO ile birlikte oluştuğunu deneysel olarak göstermiş, doğal enfeksiyonlarda ise E.coli'nin genellikle hastalığa sekonder olarak katıldığını bildirmiştir.E.coli'lerin civcivlerde omfalitis oluşturdukları 1957'de Harry,tavutlarda yumurta peritonitisine neden oldukları 1958'de Gross ve Siegel tarafından bildirilmiştir.

Son yıllarda kanatlı hayvanlarda intensif üretim sisteminin yaygınlaşması,bu hayvanlarda görülen E.coli enfeksiyonlarındaki artışların başlıca nedenidir(12).Gözlenen en yaygın durum "Coliseptisemia" olarak tanımlanan sendromdur (10,20,25,68).Bu hastalık çoğunlukla broyler yetiştirmelerinde görülmesine rağmen,yetişkin tavuklarda,hindilerde ve bunların civcivlerinde de sıklıkla rastlanılmaktadır(8, 69). Koliseptisemili kanatlıların kan,karaciğer,dalak,akciğer, böbrek gibi iç organlarından ve dokularından E.coli'ler saf kültür olarak izole edilebilmektedir(8,68,69).

Bugün E.coli'lerin kanatlılarda primer etken olarak koliseptisemi,koligranüloma,perikarditis,perihepatitis,hava kesesi enfeksiyonları, omfalitis ,enteritis, artritis,snovitis,salpingitis,oftalmitis ve sarı kesesi enfeksiyonlarına neden oldukları bilinmektedir(8,11,19,20 ,69).Ayrıca E.coli'lerin birçok hastalık olgusunda sekonder olarak bulundukları

anlaşılmıştır(8,30,68,69,).Viral,mikoplazmal,veya diğer mikrobiyel enfeksiyonlarda E.coli'lerin bulunması,hastalıkların daha ağır seyretmesine ve dolayısıyla umulandan daha fazla morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadırlar(68,99).Bazı Salmonella,Clostridium,Aspergillus,Klebsiella,Proteus,Pasteurella, Mikoplazma türleri ile Corona ve Paramyxovirusların klinik tablo yönünden E.coli enfeksiyonlarına benzer hastalıklar oluşturdukları bildirilmektedir(30,99,126,145).Bu nedenle,etiyolojik çalışmalarda izole edilen E.coli suşlarının patojenik, enteropatojenik veya enterotoksijenik özelliğe sahip oldukları in vivo veya in vitro deneylerle kanıtlanmalıdır(20,48, 61,69,70,75,77).

E.coli'ler,gram negatif,çoğunlukla hareketli,sporsuz, asidorezistans olmayan, 0,5-0,7 x 1,0-2,5 mikrometre (µm) boyutlarında,uçları yuvarlak, çomak şeklinde bakterilerdir(9,27,29).

E.coli'lerde kapsülün varlığı ancak serolojik metotlarla tespit edilebilmektedir.Kapsül,polisakkarid yapısında olup,bakterinin serotiplendirilmesine yardımcı olan kapsuler "K" antijenlerini oluşturur.E.coli'lerde hareket,peritrichious tip dağılım gösteren flagellalarla sağlanır.Protein karakterinde olan flagellalar da serolojik tanıda önem taşırlar.E.coli'lerde flagellalardan başka 'Fimbria" veya "Pilus" adı verilen organeller de bulunur.Fimbriaların bazı tiplerinin bakteriyel konjugasyon olaylarında rol oynadığı(F-pilus),diğer bazılarının ise bakterinin, konakçı organizmanın eritrositlerine ve çeşitli dokuların epitel hücrelerine yapışmasını sağladığı bir çok araştırıcı tarafından ortaya konmuştur(21,23,24,29,142).

E.coli'ler,aerobik ve fakültatif anaerobik bakteriler olup,genel besi yerlerinde kolaylıkla ürerler.Optimal üreme ısıları 37^{o}C olmasına karşın,5^{o}C-45^{o}C arasındaki ısılarda da kolaylıkla üreyebilirler.E.coli'lerin katı besiyerlerinde oluşturdukları "S" tipi kolonileri hafif yuvarlak,düzgün, bombeli ve 1-2 mm çapındadır.Kapsüllü suşlarının kolonileri mukoid karakterde olup,çapları daha büyüktür.E.coli'ler buyyonda kısa sürede ürerler ve hafif bulanıklık oluştururlar. Buyyon kültürlerinde 24 saatten sonra sıvının üst kısmında tüpe yapışık bir zar şekillenir(11,23,24,69,83,93).

E.coli'lerin izolasyon ve identifikasyonlarında çeşitli selektif besi yerleri kullanılır.Bu besi yerlerinin en çok kullanılanları MacConkey agar,Eosine Methylen Blue(EMB)agar,Endo agar ve Gassner agar dır.E.coli bu besi yerlerinde Ürediği zaman,besiyerinin terkibinde bulunan laktozu parçalayarak asit oluşturur.Buda besiyerindeki indikatörü etkileyerek renk değişikliğine neden olur.MacConkey agarda yuvarlak, kırmızı koloniler oluşturan E.coli'ler,EMB agarda metalik yeşil renkte refle veren koloniler oluştururlar.Kanlı agar da E.coli'lerin izolasyon ve identifikasyonları amacıyla ek besiyeri olarak kullanılabilir.Hemolitik E.coli suşları kanlı agarda kolayca ayrılabildikleri gibi,kapsüllü suşlar da bu besiyerinde mukoid koloniler meydana getirirler(11,23,24,83,93).

Biyokimyasal yönden çok aktif olan E.coli'lerin hemen hemen bütün suşları laktoz,glikoz,mannitol,arabinoz,rhamnoz, ve ksilozdan asit ve gaz oluştururlar.Sitratlı besiyerinde genellikle üremezler,üreyi parçalayamazlar ve H_2S oluşturamazlar. İndol,metil kırmızısı ve nitrat reaksiyonları pozitif,Voges-Proskauer reaksiyonu negatiftir.Sukroz,rafinoz,salisin,eskülin,dulsitol,inülin ve adonitole etkileri değişiktir.Dekstrin,nişasta glikojen ve inositolü fermente edemezler.Lizin,arjinin ve glutamik asidi dekarboksile ederler(11,23,24,27,69,93,151).

E.coli'lerin bir kısmı invazyon özellikleri,bir kısmı da toksinleri ile enfeksiyon oluşturmaktadırlar(57,133).E.coli suşlarının endo ve ekzotoksinlere sahip oldukları bilinmektedir (2,11,24).Endotoksinler,bakterinin hücre duvarında bulunan lipopolisakkarid-protein yapısında maddelerdir.Somatik"O" antijenleri ile ilgili oldukları bildirilmektedir(24,29).

E.coli suşlarının "enterotoksin" olarak bilinen ekzotoksinlerinin biri ısıya direçli(termostabil-ST) ve diğeri ısıya duyarlı(termolabil-LT) olan iki farklı tipi tespit edilmiştir(24,34, 57,133).Her iki enterotoksin türünün sentezinin,plazmidler tarafından kontrol edildiği anlaşılmıştır(16,57,101,104,148).

ST tipi enterotoksinin,moleküler ağırlıklarına(ma),metanolde erime özelliklerine,adenylate cyclase veya guanylate cyclase enziminin sentezini aktive etmeleri gibi özelliklerine göre 2 farklı yapıda oldukları ortaya konmuştur(57,104).

STa enterotoksini 2000 ma'ndadır,metanolde eriyebilir ve "guanylate cyclase"ı aktive eder.Laboratuvar hayvanlarından en iyi infantil fare(infant mouse)lerde ortaya konduğu için, "ST mouse" olarakta isimlendirilmektedir(128,133).STb olarak isimlendirilen diğer ısıya dayanıklı enterotoksin ise,5000 ma'nda olup,metanolde erimez ve guanylate veya adenylate cyclase'ı aktive etmez.STb enterotoksininin in vivo teşhisinde en duyarlı olarak,5-9 haftalık yaştaki domuz yavruları kullanılmaktadır(28,100,160).Heriki ST enterotoksini haptenik karakterdedir ve sentezlenmeleri farklı plazmidlerce kontrol edilir(2,57,101,133).

LT enterotoksinin 65°C de 10 dakikada inaktive olması, antijenik karakterde ve daha büyük molekül ağırlığına sahip olması ile ST tip enterotoksinden ayrıldığı bildirilmektedir (50,57,104).LT enterotoksininin LT_p(p-pig) ve LT_h(h-human)alt tiplerinin olduğu anlaşılmıştır(34,57,133).

Mikroorganizmaların patojenitelerinin ortaya konulmasında en uygun metot,izole edildiği konakçı türünde denenmesidir (83).Buzağılardan izole edilen E.coli'lerin enteropatojenik özelliklerini ortaya koymak için önceleri buzağı barsak lup testlerinden yararlanılmış(48,70),ancak ekonomik olmaması neniyle laboratuvar hayvanları kullanılmaya başlanmıştır(29,48). Bu amaçla çeşitli araştırıcılar tarafından tavşan ince barsak lup testi(53,107,),tavşan derisinde vasküler permeabilite testi(52),infantil fare testi(48,64,105)gibi in vivo metotlar geliştirilmiştir.Bunlara rağmen domuz orijinli E.coli suşlarında tespit edilen STb enterotoksininin ortaya konmasında bir çok araştırıcı domuz ince barsak lup testinin kullanılmasını önermektedir(100,101,160).E.coli'lerin deneme hayvanlarını etkilemelerinde,çevre faktörleri, deneme hayvanlarının bağışıklık durumları ve genetik duyarlılıkları, suşların toksin sentezlemeleri kadar önemlidir(31,128).Bunlara ek olarak, klinik materyallerden izole edilen E.coli'lerin deneme hayvanlarında tek tek test edilmeleri, hem çok pahalı hem de karışık sonuçlar vermektedir(48,100).Bu yüzden,E.coli'lerin enterotoksin varlıklarının saptanması amacıyla in vitro uygulabilen,çabuk sonuç veren metotlar geliştirilmiştir(50,51,52,60,65).

Evans ve Evans(50),LT enterotoksinlerin saptanması amacıyla pasif immun hemolizis metodunu geliştirmişlerdir.Guinee ve ark.(70,71) ile Kaeckenbeek ve ark.(88),enteropatojenik E.coli'lerde K99 antijenlerinin yüksek oranda bulunduğunu,enterotoksijenitenin dolaylı olarak saptanmasında K99 antiserumlanın kullanılabileceğini bildirmektedirler.Finkelstein ve ark.(60),insan ve domuz orijinli E.coli suşlarında LT enterotoksinsinlerinin tesbiti için lateks partikül aglütinasyon testini geliştirmişlerdir.Gianella ve ark.(65),radioimmunoassay(RIA) teknikleri ile ST enterotoksinlerinin tespit edilebileceğini savunmaktadırlar.Nagy ve ark.(114),enterotoksijenitenin saptanmasında ELİSA tekniğinden yararlanmışlardır.Doku kültürü metotları ile enterotoksinlerin tespit edilmesi bir çok araştırıcı (24,94,95 , 138,153) tarafından bildirilmiştir.

Son yıllarda geliştirilen ve "colony blot hybridization" olarak isimlendirilen yeni metotlarla E.coli suşlarının entetoksijenik özellikleri saptanmaya başlanmıştır(100,101).Maddox ve ark.(100) genotipik olarak enterotoksijenik olan E.coli suşlarından bazılarının laboratuvar hayvanlarında ve doku kültürlerinde test edildiklerinde enterotoksijenik karakterde bulunmadıklarını tespit etmişlerdir.Araştırıcılar,infantil fare testi, domuz ince barsak lup testi ve Y-1 fare adrenal tümör hücresi testi ile yapılan enterotoksijenite denemelerinin tekrarlanabilme oranlarının % 70 civarında olduğunu,buna karşılık "colony blot hybridization"metotları ile enterotoksijenik özelliğin tekrarlanabilme oranının %100 olduğunu bildirmişlerdir.Mainil ve ark.(101),STa enterotoksininin genotipik olarak iki farklı (STaP-insan,sığır ve domuz orijinli,STaH-insan orijinli enterotoksijenik E.coli'lerde) tipte olduğunu ,"DNA colony hybridization" olarak adlandırılan bu metot ile E.coli'lerin enterotoksin genlerinin ortaya konduğunu bildirmektedirler.Doku kültürü,RIA ve DNA hibridizasyon metotlarının uygulanabilmesi için, malzeme ve teknik eleman yönünden büyük laboratuvarlara gereksinim olması sebebiyle bu testler pratikte kullanılamamaktadır.

İnsan ve hayvanlarda ekstraintestinal enfeksiyonlara neden olan E.coli'lerin invazyon özellikleri,in vivo Sereny testi ile, in vitro ise doku kültürü ve ELİSA teknikleri ile tespit edilebilmektedir(57,61,124,140).Ancak,kanatlı orijinli E.coli'lerle

çalışan araştırıcılar suşların in vivo olarak patojenite denemelerinde kobay,tavşan gibi laboratuvar hayvanlarından ziyade, genç kanatlıları kullanmışlardır(10,12,13,39,40,77,78,111,116).

Arp(12),Arp ve ark(13) ve Naveh ve ark.(116),kanatlıdan izole edilen E.coli suşlarının patojenitelerinin tespit edilmelerinde,deneme hayvanlarına verilen bakteri kültürlerinin veriliş yollarının önemli olduğunu bildirmişlerdir.Sojka ve Carnaghan(152),243'ü koliseptisemiden,554'ü ise enteritis,panoftalmitis,artritis,omfalitis ve yumurta peritonitisi gibi enfeksiyonlardan izole edilen toplam 797 E.coli suşunun patojenitesini civcivlere intravenöz,skarifikasyon ve aerosol yollarıyla vererek denemişlerdir.Araştırıcılar,belirtilen enfeksiyonların oluşturulduğunu ve veriliş yollarına göre %30-100 arasında ölümlere sebep olduklarını bildirmişlerdir.Harry ve Chubb(77), septisemili tavuklardan izole ettikleri E.coli'leri,civcivlere subkutan vererek patojenitelerini tespit etmişlerdir.Araştırıcılar,iç organlardan izole edilen suşların her denemede patojen bulunduklarını ayrıca barsaklardan da patojen suşların izole edildiğini bildirmişlerdir.Heller ve Drabkin(78),10 günlük civcivlerde oral yolla yaptıkları patojenite çalışmalarında,kanatlıların enfekte materyallerinden izole edilen E.coli suşlarının % 92'sinin septisemi veya ölümler oluşturduğunu açıklamışlardır.Dho ve Lafont(40),48'i bir günlük hindilerin sarı kesesinden ve 11'i enfekte tavuk ve hindilerin karaciğerlerinden izole edilen 59 E.coli suşunun bazı patojenik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında,suşların % 78'inin bir günlük civcivler için patojen olduklarını rapor etmişlerdir.Rosenberger ve ark. (135),septisemili broylerlerden izole edilen E.coli'leri bir günlük civcivlere intratracheal yolla vererek yaptıkları patojenite denemelerinde E.coli suşlarının in vivo ve in vitro patojenik özellikleri arasında belirgin bir ilişki tespit edememişlerdir.Amonyak gazının kanatlıların E.coli enfeksiyonlarına etkisini araştıran Nagaraja ve ark.(110),hava sirkülasyonu iyi yapılmayan kümeslerde çok bulunan bu gazın,hayvanların mukolarını tahriş ederek,E.coli'lere karşı olan doğal direnci azalttığını ortaya koymuşlardır.Patojenik ve apatojenik E.coli'lerin gnotobiyotik hindilerin barsaklarına adhezyonlarını inceleyen Nagaraja ve ark.(111),somatik pili'nin patojenite için önemli olduğunu elektromikroskobik olarak göstermişlerdir.

Arda ve ark.(10) septisemili piliçlerden izole ettikleri 20 E.coli suşunun patojenik ve enteropatojenik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında,% 75'inin patojen,% 55'inin enteropatojen olduğunu bildirmişlerdir.Araştırıcılar,enteropatojenite ve patojenite arasında bir ilişki bulunamadığını,bazı suşların enterotoksinleriyle bazılarının da invazyon özellikleri ile hastalık oluşturduklarını belirtmişlerdir.Diker ve İstanbulluoğlu(42) kanatlıların ince ve kalın barsaklarında yaşayan ve normalda saprofit karakterde olan bazı E.coli suşlarının belirli koşullar oluştuğunda çeşitli enfeksiyonlara sebeb olduklarını bildirmektedirler.Aydın ve ark.(17) yemlere katılan çeşitli antibiyotiklerin, civciv ve piliçlerin barsak floralarını etkileyerek E.coli populasyonunda antibiyotiklere dirençli suşların artmasına neden olduklarını,R plazmidlerinin aktarılmalarından dolayı enfeksiyon durumlarında tedavi olasılığını azaltarak patojeniteye katkıda bulunduklarını bildirmektedirler.

E.coli'leri özgül fajlarla tiplendirme çalışmalarını Sojka (151)'nın bildirdiğine göre;Kauffmann ve Vahlne başlatmıştır. Araştırıcılar,kapsüllü E.coli suşlarının faj lizisine karşı kapsülsüz varyantlarından daha dirençli olduklarını tespit etmişlerdir.Bhatia(22),tavuklardan izole edilen çeşitli serotiplerdeki E.coli suşlarını,kanalizasyon sularından izole ettiği 10 farklı faj ile tiplendirmiş,100 E.coli suşundan 94'ünün bir veya daha fazla faj tarafından lize edildildiğini bildirmiştir. E.coli'lerin fajlarla identifikasyonları bu gün,diğer bakterilerin identifikasyonlarındaki kadar yaygın kullanılmamaktadır.

E.coli'lerde,bakteri DNA'sından ayrı olarak,ekstrakromozomal genetik elementlerin(plazmidler ve epizomlar) bulunduğu ortaya konmuştur(11,16,23,24).Plazmidlar,bakteri DNA'sı ile eş zamanlı olarak çoğalırlar ve bir bakteriden diğerine aktarılabilirler(9). Bugün E.coli'lerde bir çok özelliğin plazmidler tarafından kontrol edildiği saptanmıştır(16,148,161).Plazmidlerin kontrolünde olan özelliklerden başlıcaları;antibiyotiklere direnç ve aktarımı,seks faktörü,kolisin faktörü,hemolizin faktörü,enterotoksin üretimi ve kolonizasyon faktörleridir(9,16,20,47,80,147,148,149,150).

Antibiyotiklere dirençliliği sağlayan R-plazmidlerin bulunduğu bakteriyi,taşıdığı karekterler yönünden pozitif duruma getirdiği ortaya konulmuştur.Bilinçsiz antibiyotik kullanımının insan

ve hayvanlardaki antibiyotiklere dirençli E.coli populasyonlarını arttırarak tedaviyi güçleştirdiği bir çok araştırıcı tarafından bildirilmiştir(15,17,82,83).Echeverria ve ark.(47), antibiyotiklere dirençli enterotoksijenik E.coli'lerde(ETEC), STb enterotoksini sentezini ve antibiyotiklere dirençliliği kontrol eden genlerin aynı plazmid üzerinde bulundwğunu tespit etmişlerdir.

Kolisinler,E.coli'ler tarafından sentezlenen ve diğer duyarlı E.coli'ler üzerinde öldürücü etkiye sahip olan,protein yapısında, antibiyotik benzeri maddelerdir(5,11,84).Sojka(151), ilk kez Gratia tarafından saptandığını ve bunlara Gratia ve Frederico tarafından kolisin adı verildiğini bildirmektedir. E.coli suşlarının 20'den fazla kolisin sentezledikleri tespit edilmiştir(5,84).İnsan ve hayvanların enfekte ve sağlıklı materyallerinden izole edilen E.coli suşlarının kolisin aktivitelerinin patojenik karakterleri ile ilgisi bir çok araştırıcı tarafından incelenmiştir(4,5,10,38,42,43,85,129).

Alwis ve Thomlinson(5),domuzlardan izole edilen E.coli suşlarını kolisinojenik ve kolisin duyarlılığı özellikleri yönünden incelemişler,patojenik E.coli'lerin barsak florasındaki komensal E.coli suşları tarafından sentezlenen kolisinlere duyarlı olduklarını bildirmişlerdir.Vasenius(157),sağlıklı domuzlardan kolisinojenik E.coli suşlarını daha fazla izole ettiğini, bu durumun sağlıklı hayvanların barsak florasında bulunabilen patojen suşlardan korunmada yardımcı olabileceğini savunmuştur. Smith ve Huggins(148),sığır ve tavuklarda,Colicin-V plazmidini bulunduran E.coli suşlarının,bu plazmidi bulundurmayanlardan daha patojen olduklarını belirtmişlerdir.Franklin ve ark.(62), 0149 serogrubundaki E.coli suşlarında ST enterotoksini sentezi ile kolisin üretiminin aynı plazmid üzerinde lokalize olduğunu tespit etmişlerdir.Pohl ve ark.(129),sığır ve domuz orijinli E.coli suşları ile yaptıkları çalışmalarında,ETEC suşlarının daha yüksek oranda kolisinojenik olduklarını bildirmişlerdir. Djonne(43),ETEC'lerin çoğunluğunda K88,K99 gibi antijenlerle birlikte kolisin sentezinin de bulunduğunu,saprofitik suşlarda

ise kolisin sentezinin düşük oranlarda bulunduğunu bildirmiştir. Araştırıcı,tetrasiklin,ampisilin ve neomisine dirençlilik ile streptomisine duyarlılık özelliğinin,kolisinojenik suşlarda çok yaygın olduğunu,bu iki özelliğin aynı plazmid üzerinde bulunabileceğini savunmaktadır.Jakovina (86),sağlıklı kanatlılardan % 98,enteritislilerden ise % 80'e yakın oranlarda kolisinojenik E.coli izole ettiğini bildirirken,tavuk ve hindilerden izole edilen E.coli suşlarıyla çalışan Heller ve Drabkin (78),hasta hayvanlardan,sağlıklı olanlara oranla daha fazla kolisinojenik suş izole edildiğini belirtmişlerdir.

İnsan ve hayvanlardan izole edilen E.coli suşlarının kolisin aktiviteleri üzerinde yurdumuzda da çeşitli araştırmalar yapılmıştır(10,18,38,42,84,91).Çetin ve ark.(38),insanların çeşitli numunelerinden izole edilen 247 E.coli'den % 15.3'ünün kolisinojenik olduğunu ve bunların 35 değişik kolisin tipi oluşturduklarını tespit etmişlerdir.Diker ve İstanbulluoğlu(42)tavuk dışkılarından izole ettikleri 35 E.coli suşunda %14.2 oranında kolisinojenik aktivite bulunduğunu bildirmişlerdir.İzgür ve İstanbulluoğlu(85)sağlıklı koyunların dışkılarından izole edilen E.coli'lerde %3 oranında kolisin aktivitesi bulmuşlardır. Arda ve ark.(10),septisemili piliçlerden izole edilen 20 E.coli suşunda kolisin aktivitesine rastlayamamışlardır.Kıvanç (91), içme sularından % 21.8 oranında kolisinojenik E.coli izole ettiğini bildirmiştir.Ayhan (18)insan ve hayvanların enfekte ve sağlıklı materyallerinden izole edilen E.coli suşlarında,insan, sığır ve hindilerde sırasıyla % 4,% 5.1 ve % 100 oranında kolisin aktivitesine rastladığını bildirmiştir.

Gerek erişkin ve gerekse yavru serumlarının bazı mikroorganizmalara karşı bakterisidal aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir(83).McEven(103),buzağı ve danalarda E.coli'ye karşı görülen direncin,pasif veya aktif kazanılan bir bağışıklığa bağlı olmadığını rapor etmiştir.Araştırıcı,buzağılarda kolostrum alındıktan ve 4 haftalık olduktan sonra alınan serumların antibakteriyel aktiviteleri arasında bir fark bulunmadığını ileri sürmektedir.Glantz ve ark.(66),129 inek serumunun,67 farklı serotipteki E.coli suşuna karşı antibakterisidal etkilerini inceledikleri çalışmalarında 19 serumun hiçbir aktiviteye sahip

olmadığını bildirmişlerdir.Smith(146),68 buzağı serumunun 80 E.coli serotipine karşı antibakteriyel etkilerini araştırmış, aktivitenin olabilmesi için biri ısıya dayanıklı,diğeri duyarlı olan iki faktörün bulunması gerektiğini ileri sürmüştür.Cross ve ark.(36),invaziv E.coli'lerin taze insan serumuna rezistans gösterdiklerini tespit etmişler ve bu özelliğin K1 kapsül antijeni,lipopolisakkarid(LPS) komponentleri ile ilişkili olduğunu, kapsülü kaybeden suşların serum rezistansı yeteneğini de kaybettiğini tespit etmişlerdir.Diker(41),akut mastitislere neden olan E.coli'lerin çoğunun kapsüllü olduklarını,böylece serumda ve sütte bulunan çeşitli maddelerin bakterisidal etkilerine direnç gösterebildiklerini bildirmektedir.Rainard(132),süt serumunda bulunan laktoferrin ve transferrinin E.coli'ler üzerine, immunglobulinlerden daha fazla inhibitör etki yaptığını açıklamaktadır.Sanchez-Carlo ve ark.(140),mastitisli inek sütlerinden izole ettikleri E.coli'lerin %99.5'inin serum rezistan karakterde olduğunu tespit etmişlerdir.Fietta ve ark.(59),gram negatif enterobakterilerin R kolonili suşlarının çoğunluğunun taze seruma duyarlı,S karakterli suşların büyük çoğunluğunun da dirençli olduğunu bildirmektedirler.Serumun bu etkilerinin komplement sistemi komponentleri ile diğer bazı faktörlerden dolayı olduğunu ileri sürmektedirler.Araştırıcılar,bakterinin serum rezistan yeteneğinin plazmidlerden başka,bakterinin hücre yüzeyi yapılarıyla da ilgili olduğunu bildirmektedirler.Nilus ve Savage(117),E.coli'lerin ince barsaklara adhezyon,serum rezistan,peritoneal makrofajlara direnç gibi virulenslerini arttırıcı özelliklerin Col-V plazmidleri üzerinde kodlanmış olduğunu bildirmektedirler.Achtman ve ark.(1) ile Pluschke ve ark.(130), insan ve hayvan orijinli E.coli suşlarının invazyon yetenekleri ile kapsül antijenlerinin ve serum rezistan özelliklerinin ilişkili olduklarını açıklamışlardır.

E.coli'lerin serolojik metotlarla sınıflandırılmalarının 1943'te Kauffmann tarafından başlatıldığı ve araştırıcının bu sınıflandırmayı E.coli'lerin ısıya dayanıklı somatik "O",ısıya duyarlı kapsüler "K" ve flagellar "H" antijenlerine göre yaptığı bildirilmektedir(29,90,93,98).

Bu güne kadar binlerce E.coli serotipi saptanmış olmasına rağmen,yeni serotiplerin bulunması mümkündür(68).Kanatlılarda patojen olarak bilinen E.coli'lerin çoğunluğunun O1,O2 ve O78

serogruplarında olduğu,bir çok araştırıcı(68,68,90,154)tarafından bildirilmiştir.Bu serotiplerdeki suşların her zaman patojen olmadıkları gibi,bunların dışındaki serotiplerde bulunan E.coli lerin de patojen olmaları(68,69,90),serolojik identifikasyonun zaman alıcı ve pahalı olması yanında rutin teşhiste değersiz olduğu,bir çok araştırıcı tarafından savunulmaktadır(35,69). Kanatlılarda bilinen bu serotiplerden başka,Bandyopadh ve Dhawedkar(19)O17,O5,O60veO19,Barbour ve ark(20) O33,Cloud ve ark.(35) O35 ve Guo ve ark.(72) O118,O73 ve O14 serogruplarındaki E.coli suşlarının da yaygın olarak izole edildiğini bildirmektedirler.

Enterobakterilerin somatik antijenleri üzerinde yapılan ayrıntılı çalışmalarla "O" antijenlerinin yanısıra,bir çok bakteri türünde ortak olarak bulunabilen antijenlere rastlanılmıştır(11,102).Makela ve Mayer(102), "Kunin antijeni" veya enterobakteriyel "Common antigen" olarak bilinen bu antijenin,ilk kez 1962'de Kunin ve ark. tarafından saptandığını bildirmektedirler.Enterobakteriyel ortak antijenler olarak bilinen bu antijenler,polisakkarid yapısındadırlar ve 100°C'de inaktive olmazlar (11,83,102).Patojenitede rol oynadıkları savunulmaktadır(11,102).

Son yıllarda yapılan araştırmalarla,insan ve hayvanlarda enfeksiyonlara neden enterotoksijenik,enteropatojenik ve enteroinvaziv karakterlerdeki E.coli suşlarının bir çok serotiplerinde,türe özgül fimbrial antijenlerin saptanması,klasik serotiplendirmede fimbrial antijenlerinde kullanılmasına neden olmuştur(54,57,71,119).Hayvanlardan izole edilen E.coli'lerde,virülens faktörü olarak bildirilen ilk fimbrial antijen "K88"olup, Örskov ve ark.(123),tarafından tanımlanmıştır. K88 antijenlerinin domuz orijinli ETEC'lerin O8,O45,O138,O141,O147,O149 ve O157 serotiplerinde sıklıkla bulunduğu bildirilmektedir(87, 92) Buzağı orijinli ETEC'lerde K99 fimbrial antijenlerinin yaygın olarak bulunduğu ilk defa 1971'de Smith ve Linggood (150) tarafından bildirilmiştir.K99 antijeninin buzağı orijinli O8,O9, O20,O64 ve O101 serotiplerinde daha fazla bulunduğu tespit edilmiştir(57,70,92).İnsanlarda üriner sistem enfekisyonlarından izole edilen O1,O4,O6,O7,O16 ve O18 serogruplarında "P"fimbria,ishallerden izole edilen O6,O8,O9,O78 ve O168 serotiplerindeki ETEC suşlarında kolonizasyon faktör antijenleri olarak

tanımlanan CFA/I ve CFA/II antijenlerinin bulunduğu bir çok araştırıcı(49,51,92,122) tarafından bildirilmiştir.Morris ve ark.(108), K99 antijeni için referens suş olarak bilinen E.coli B41 suşunda K99'dan farklı antijenik yapıda ikincil bir fimbrial antijen saptadıklarını ve "F41" olarak isimlendirdiklerini bildirmektedirler.Bugün domuzların enteropatojenik E.coli'lerinde K88,987P ve K99 antijenlerinin,buzağı ve kuzuların enteropatojenik E.coli' lerinde K99 ve F41 antijenlerinin önemli rol oynadığı bir çok araştırıcının ortak görüşüdür(92,109,145,156).Bu nedenle insan ve hayvanların klinik materyallerden izole edilen E.coli'lerde toksin varlığı yanında spesifik fimbrial antijenlerin de gösterilmesi gerekli bulunmaktadır(70,71,88).Fimbrial veya diğer bakteri yüzey yapılarının bakteriyel yapışma olarak isimlendirilen "adhezyon"da önemli oynaması,araştırıcıları son 10 yıldır konakçı ve bakteri açısından adhezyon faktörlerinin belirlenmesine yöneltmiştir(32,33,121,139).Yapılan çalışmalar,bakterilerin,mukozal yüzeylere adhezyonlarının;doku ve tür özgüllüğü ile genetik faktörlerin etkisinde olduğunu,ayrıca konakçıda bulunan spesifik ve nonspesifik faktörlerin de önemli olduğunu ortaya koymuştur(3,21,127).Sağlıklı konakçıların mukozal yüzeyleri öksürme,aksırma,yutma,peristaltizm,antibakteriyel enzimler ve antikorlarla yüklü sekresyonlarla yıkama gibi koruyucu sistemlerle,patojen bakterilerin tutunmalarını önlemeye çalıştığı bildirilmektedir(2,12,13,31,75).Acres (2),sağlıklı buzağıların barsaklarındaki flora etkeni E.coli'lerin büyük çoğunluğunun barsak içeriğinde bulunduğunu,aksine kolibasillozisli buzağılarda,ETEC'lerin % 80-90'ının barsak epitellerine tutunmuş olduğunu bildirmektedir.Araştırıcı,adhezyonun moleküler seviyedeki mekanizmasının tam olarak bilinmemekle birlikte,fimbrial ve kapsüler antijenler yardımıyla olduğunu,K99 ve F41 fimbrialarının konakçı reseptörlerinin "sialik asit" ,tip-1 gibi yaygın fimbrialarının konakçı reseptörlerinin üzerinde "mannoz" bulunan mukozal yüzeyler olduğunun sanıldığını savunmaktadır.Pearson ve Logan(126) enteropatojen E.coli'lerin,buzağılarda ince barsakların distal kısımlarına adhere olduklarını,Rotavirus ve Criptosporidia'lar gibi ince barsak villuslarında atrofiye sebep olduklarını savunmaktadırlar.Neonatal buzağıların ETEC suşlarına karşı yaşla artan

bir direnç gösterdikleri bilinmektedir(2).Yaşla ilgili bulunan bu doğal direncin,doğumda var olan K99 reseptörlerinin kaybedilmesine yada reseptörsüz bir hücre populasyonuna değiştirilmesiyle izah edilebileceği savunulmaktadır(2).

E.coli'lerin yüzey yapılarının patojenitede önemli rol oynaması,hemagglutinasyon,adhezyon ve hidrofobik özelliklerinin araştırılmasını yoğunlaştırmıştır.

E.coli'nin eritrositlerle hemagglutinasyon oluşturduğu, ilk kez Guyot(73) tarafından bildirilmiştir.Rosental(137)löykositler,spermatositler,mayalar ve pollenlerin bile E.coli'ler tarafından agglutine edildiklerini kaydetmiştir.Kauffmann(89), 1'den 25'e kadar olan O serogrubundaki E.coli'lerin 112 suşundan 78'inin eritrositleri hemagglutine ettiğini bildirmiştir. Duguid ve ark.(46),E.coli'leri HA verilerine dayanarak 4 gruba ayırmışlardır.Değişik tür eritrositlerle HA veren suşları ilk 3 gruba,hiçbir eritrositle HA vermeyen suşları 4. gruba sokmuşlardır.Araştırıcılar,I.gruptaki E.coli'lerin tüm eritrositlerle HA verdiğini,oluşan HA'un "D-mannoz" veya "methyl-alpha-D-mannoside" ile tam olarak önlendiğini,II.ve III.gruptakilerin ise, farklı eritrositlerle farklı HA verileri oluşturduklarını açıklamışlardır.Araştırıcılar E.coli'lerin HA özelliklerinin fimbria olarak nitelendirilen filamentöz yapılar tarafından oluşturulduğunu bildirmişlerdir.Duguid ve ark.(45) sonraki yıllarda, 1'den 162'ye kadar olan 155 değişik O serotipindeki 387 E.coli suşunun HA verilerini incelemişler ve mannoz rezistan(MR) ve mannoz sensitiv(MS)hemagglutininlerin özelliklerini ortaya koymuşlardır.Evans ve ark.(51),insan orijinli enterotoksijenik (ETEC),enteropatojenik(EPEC),fakültatif enteropatojenik(FEEC) ve saprofitik karakterlerdeki E.coli suşlarını insan,sığır,tavuk ve kobay eritrositleri ile mannozlu ve mannozsuz ortamlarda HA testlerine tutarak,CFA antijenine sahip ETEC'lerin ön identifikasyonları için bir HA tiplendirme sistemi geliştirmişlerdir.Araştırıcılar,HA sistemini E.coli suşunun insan,sığır,tavuk ve kobay eritrositleri sırasıyla oluşturdukları HA'un, hemagglutinasyon nagatif(N),mannoz rezistan(R)veya mannoz sensitiv(S) oluşuna göre ve yanyana yazılmalarıyla formüle edilen,

4 ana tipte toplamışlardır.Bu tiplendirmeye göre,RRRS formülünde HA veren bir E.coli suşu,insan eritrositleri ile mannoz rezistan hemagglutinasyon(MRHA),sığır eritrositleri ile MRHA,tavuk eritrositleri ile MRHA ve kobay eritrositleri ile mannoz sensitiv hemagglutinasyon(MSHA) vermiştir.Araştırıcılar,I.tip HA olarak sınıflandırdıkları formülleri(RRRN veya RRRS) oluşturan suşların CFA/I antijeni bulunduran ETEC'ler olduğunu,CFA/II antijenine sahip ETEC'lerin ise NRRN veya SRRS formüllerinin dahil edildiği II.tip HA oluşturduklarını belirtmişlerdir.III tip HA veren suşların NNSS veya RNSS formülündeki EPEC'ler(%78.1)olduğunu,diğer formüllerde HA oluşturan tüm suşların IV.tipde toplandığı bildirmişlerdir.Evans ve ark.(54) bu sisteme maymun eritrositlerini ilave ederek genişletmişler ve 7 tip HA'dan oluşan E.coli'leri tiplendirme sistemini önermişlerdir.Old (118) E.coli'lerdeki fimbrial hemagglutininlerle,eritrositler arasında şekillenen direk hemagglutinasyonun değişik karbonhidratlarla inhibisyonu üzerinde çalışmıştır.Tip-1 fimbria bulunduran suşlarda D-mannoz ve bazı derivatlarının etkisinin güçlü olduğunu,bunlara ilaveten orta ve zayıf inhibitör etkiye sahip tüm karbonhidratları tespit etmiştir. Sweeney ve Freer (155),E.coli'lerin çoğunluğunda tespit edilen tip-1 fimbria'nın bakteri yüzeyinde terminalden ziyade,lateral yerleştiklerini bildirmişlerdir.Kaeckenbeek ve ark.(88),sığırlardan izole edilen EPEC'lerde,MRHA$^+$ ve K99 antijenlerinin %99 oranında birlikte bulunduğunu saptamışlardır.Olivera ve ark.(119) domuzlardan izole edilen enterotoksijenik ve enterotoksijenik olmayan E.coli'lerin K88,K99 ve CFA gibi kolonizasyon faktörleri taşıma ve MRHA özelliklerini inceledikleri çalışmalarında,kolonizasyon faktörlerini bulunduran suşların MRHA testlerinde depozitif bulunduklarını tespit etmişlerdir.Araştırıcılar,enterotoksijenik olmayan suşların önemli bir kısmının MRHA$^+$ verdiğini, K88,K99 gibi antijenlerin tespit edilememekle birlikte henüz bilinmeyen kolonizasyon faktörlerinin bulunabileceğini savunmuşlardır.Gonzales ve Blanco(67),ishalli domuzlardan izole edilen E.coli suşlarının,sağlıklılardan izole edilenlerden daha fazla MRHA aktivitesine sahip olduklarını,ancak enteropatojenite veya enterotoksijenite ile kesin bir ilişki bulamadıklarını bildirmektedirler.Domuz orijinli E.coli'lerle çalışan Fairbrother ve

ark.(55) "E165" adında,MRHA veren yeni bir fimbrial hemagglutinin tespit ettiklerini açıklamışlar ve bu tür fimbriaların ekstraintestinal enfeksiyonlara neden olan E.coli suşlarında yaygın olabileceğini ileri sürmüşlerdir.Sanchez-Carlo ve ark. (140),tavşan,kobay ve koyun eritrositlerini kullanarak,mastitislerden izole edilen 184 E.coli suşunun MRHA özelliklerini incelemişler,140 suş MSHA ve 94 suş MRHA vermesine karşın,belirgin bir ilişki bulamamışlardır.Sesli(143),sığır orijinli 19 E.coli suşunun tavşan,koyun,keçi,sığır,kobay ve tavuk eritrositleri ile mannozsuz ortamda direk hemagglutinasyon özellerini incelemiş,% 66.4'ünün kobay ve tavuk eritrositleri ile HA vermesine karşın,diğer eritrositlerle HA gözlenemediği bildirmiştir.Çakır ve ark.(37)ise,insanların idrar yolları enfeksiyonlarından izole ettikleri 100 E.coli suşunun % 12 sinin MRHA,% 5'inin MSHA verirken diğerlerinin HA oluşturmadığını tespit etmişlerdir.

Bazı araştırıcılar(6,40,75,76,109),insan ve hayvanlardan izole ettikleri E.coli'lerin,HA ve adhezyon özelliklerini, birlikte incelemişlerdir.Harper ve ark.(76),E.coli suşlarının, sığır meme epitellerine adhezyon ve kobay eritrositlerinin HA'undan sorumlu yapıların fimbrialar olduğu ve heriki reaksiyonun D-mannoz ile önlendiğini bildirmişlerdir.Morris ve ark.(109) F41 fimbrialı E.coli suşunun koyun eritrositlerini hemagglutine ettiğini ve buzağı barsak epitellerine in vitro adhere olduklarını ve heriki özelliğin D-mannozdan etkilenmediğini açıklamışlardır.Hagberg ve ark.(75) insanların üriner sistem enfeksiyonlarından izole ettikleri E.coli suşlarından MRHA verenlerin insan üriner sistem epitellerine in vitro şartlarda daha başarılı adhezyon yaptıklarını bildirmişlerdir.Faris(57) ile Faris ve ark.(58),ETEC suşlarında bulunan spesifik fimbrial antijenlerin değişik eritrositlerle MRHA verdiklerini,mastitis orijinli E.coli'lerin ise,bir çok doku ve organın ekstrasellüler matriksinde bulunan fibronektine bağlanmalarının önemli bulunduğunu savunmaktadırlar.Araştırıcı(57) fibronektine adhezyonu sağlayan mastitis orijinli E.coli'lerdeki fimbriayı,"fibronektin bağlayan fimbria" manasında,Fib-fimbria olarak isimlendirmiştir Fröman ve ark.(63),E.coli'lerin fibronektine bağlanmalarını adhezyon mekanizması olarak göstermektedirler.Evans ve ark.(49),kolonizasyon faktör antijenlerine sahip ETEC suşlarının

MRHA özellikleri ile tavşan ve fare yavrularının ince barsaklarına in vivo ve in vitro adhezyon özelliklerinin korrelasyonlu olduklarını tespit etmişlerdir.Aning ve ark.(6), "bedema"lı domuzlardan izole ettikleri 3 E.coli suşunun bilinen fimbrial antiserumlarla reaksiyon vermeyen,sadece domuz eritrositleriyle MRHA veren,formaldehitle inaktivasyona dirençli ve domuz ince barsak epitellerine in vitro adhezyonu sağlayan fimbrialara sahip olduklarını tespit etmişler,suşların enterotoksin sentezlemediklerini ancak enterotoksin sentezinin plazmidlerle aktarılmalarından dolayı enterotoksijenik karakter kazanmalarının mümkün olduğunu bildirmektedirler.Richter ve Hellmann(134)ise ishalli köpeklerden izole edilen E.coli'lerin enterotoksijenite ve MRHA özellikleri arasında belirgin bir ilişki bulunamadığını savunmuşlardır.

İnsan,domuz,buzağı ve kuzulardan izole edilen enterotoksijenik,enteropatojenik ve patojenik karakterlerdeki E.coli'lerde CFA,K88,K99 gibi spesifik fimbrial antijenlerin önemli rol oynadıklarının anlaşılması,evcil kanatlılarda enfeksiyonlara sebep olan E.coli'lerde de,bu gibi adhezyon faktörlerinin araştırılmasını ön plana çıkarmıştır(40, 111,154).Arp ve ark.(13) hindi enfeksiyonlarından izole edilen E.coli suşlarını,2.5 haftalık hindi palazlarına pulverizasyonla vererek denemişler,virülent suşların solunum sisteminden kan dolaşımına geçişe yardım eden, virülens faktörlerine sahip oldukları şeklinde açıklamışlardır. Arp(12) kanatlılarda invaziv E.coli suşlarının en önemli giriş yollarından birisinin solunum sistemi olduğunu bildirmektedir. Erişkin kanatlıların barsak sistemlerinde bulunan E.coli suşlarının % 10-15'inin patojen karakterde olduğu(12, 68), kümes tozlarının her gramında yaklaşık 10^5-10^6 E.coli bulunduğu(68) bildirilmiştir.Arp ve Jensen(14) ve Fardiaz(56),hindilerden izole edilen virülent E.coli suşlarının solunum sistemi epitellerine adhezyonlarından sorumlu yapıların tam olarak bilinmemesine rağmen tip-1 fimbrianın önemli bulunduğunu savunmaktadırlar. Çalışmalarını gnotobiyotik hindilerde yapan Nagaraja ve ark.(111), O1a,O2a ve O78 serotiplerindeki patojen E.coli'lerin, in vivo ve

in vitro ortamlarda somatik(tip-1)fimbria sentezlediklerini, barsaklardaki azalmış oksijenli ortamlarda ise fimbrialı bakterilerin fimbriasızlardan daha iyi üredíklerini elektronmikroskobik incelemlerle göstermişlerdir.Dominik ve ark.(44), E.coli'lerin gnotobiyotik hindilerin barsaklarına adhezyonlarında tip-1 fimbrianın önemli olmadığını ileri sürmektedirler.Dho ve Lafont(40) kanatlı orijinli E.coli'lerin in vitro tavuk trachea epitellerine adhezyonları ile hemagglutinasyon özellikleri arasında belirgin bir ilişki tespit edilemezken,adhezyon kabiliyeti ile civciv patojenite arasında daha iyi ilişki bulunduğunu bildirmektedirler.Rosenberger ve ark.(135),tavuklarda solunum sisteminin yapısal bütünlüğünün muhafazasının, E.coli enfeksiyonlarına direnme açısından önemli olduğunu göstermişlerdir.Ayrıca 15 günlükten büyük civcivlerde yaşla artan bir direncin olduğunu bildirmişlerdir. Araştırıcılar bu dirençten,üst ve alt solunum sistemi epitellerinin olgunlaşması ile ilgili faktörlerin sorumlu olduğunu ileri sürmektedirler.Naveh ve ark.(116) koliseptisemili tavuk ve hindilerden izole ettikleri E.coli suşlarının,in vivo ve in vitro olarak tavuk trachea epitellerine adhezyon gösterdiklerini elektronmikroskobik incelemelerle ortaya koymuşlardır.Araştırıcılar,patojenik E.coli suşlarının fimbriasız formlarının adhezyonu başaramadıklarını,fimbrialı parentlerine oranla intratracheal enfeksiyonlarda, çok daha az virülent olduklarını bildirmişlerdir.Ayrıca aynı çalışma ile parenteral yollarla verilen fimbrialı ve fimbriasız patojen E.coli'ler arasında virülens açısından belirgin bir fark bulunamadığı belirtilmiştir.

Bakterilerin hücre yüzey yapılarını ortaya koyan hidfobik jellere adsobsiyon(Hydrophobic Interaction Chromotography,HIC),salt aggregation (SAT) ve hekzaden'e adhezyon gibi testler arasında yüksek oranda korrelasyonlar bulunduğu bildirilmiştir(57,159). Faris (57), CFA,K88,K99 gibi spesifik antijenlere sahip E.coli'lerin hidrofobik özellikler yönünden bu gibi spesifik hücre yüzeyi antijenlerini bulundurmayanlardan daha iyi hidrofobik jellere tutunduklarını ve daha düşük

SAT değerlerine sahip olduklarını bildirmektedir.Araştırıcı, HA oluşturmayan 4 K99 pozitif E.coli suşunun Octyl/Phenyl sepharose adsorbsiyon testinde de negatif bulunduklarını tespit etmiştir.Wadström ve ark.(159)K88,K99 gibi fimbrial antijenlerin en iyi 33°C nin üzerinde sentezlendiğini ve 18° C de sentezlenmediğini HIC denemeleri ile göstermişler,hidrofobik özelliklerin, bakterilerin "O" ve "K" antijenleri ile ilişkileri olmadığını bildirmişlerdir.Bakterilerin hidrofobik karakterlerini ortaya koyan testler basitleştirilerek(58), amonyum sülfat süspansiyonlarında bakterilerin birbirine tutunarak çökelmeleri esasına dayanan,SAT testi geliştirilmiştir.Çakır ve ark.(37), E.coli'lerde,hidrofobik özelliklerin, pilus(fimbria)lardan başka yüzey yapıları tarafından oluşturulmadığını savunmaktadırlar.Bazı araştırıcılar(37,158) SAT testini,özellikle HA oluşturmayan E.coli suşlarının fimbrialarının ortaya konmasında kullanmaktadırlar.

Klinik vakalardan izole edilen E.coli suşlarının patojenitelerinin tesbiti kadar,kolibasillozis enfeksiyonlarının tedavileri ve korunma da üzerinde önemle durulması gereken konulardandır.Antibiyotiklerle korunmanın,antibiyotiklere dirençli E.coli populasyonlarını süratle arttırdığı bir çok araştırma (10,15,17,82) ile ortaya konmuştur.Enfeksiyöz hastalıklardan korunmada,temizliğin,yeterli ve dengeli beslenmenin,soğuk-sıcak gibi çevresel faktörlerin,yeterli titrelerde spesifik antikorların önemi bilinmektedir(11).Binlerce serotipi bulunan E.colilerin oluşturdukları enfeksiyonlardan korunmada,aşı uygulamalarının başarısızlığından,önceleri bölgesel suşların farklı olsı sorumlu tutulmuştur(3).İnsan ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlar oluşturan,enterotoksijenik,enteropatojenik veya invaziv E.çoli'lerde türe özgül fimbrial antijenlerin ortak olarak bulunması ve bunlara karşı elde edilen antiserumların in vivo ve in vitro ortamlarda bakterinin adhezyonlarını inhibe etmeleri,aşı çalışmalarına yeni bir yön vermiştir.Acres ve ark. (3)gebe inekleri;saf K99 fimbrialardan,formolle inaktive K99^{+} ETEC bakterinlerinden ve altı değişik serotipteki K99 negatif

ETEC suşlarından hazırladıkları 3 farklı aşı ile subkutan aşılamışlardır.Araştırıcılar,yeni doğan buzağılara ve kontrol grubundaki buzağılara aşı hazırlamada kullanılan suşları vermişlerdir. Kontrol grubundaki 10 buzağıdan 9'unun ishalden öldüğünü,6 farklı suşla hazırlanan aşı ile aşılanmış sığırların buzağılardan 6'sının ishale yakalandığı ve 4'ünün öldüğünü gözlemişlerdir. Purifiye K99 ve formol inaktivasyonu ile hazırlanmış aşılardan çok iyi sonuçlar alındığı ve korunmada bakterinin "O" ve"K"antijenlerine karşı gelişen kolostral antikorlarla ilişkisinin olmadığı bildirilmiştir.Moon ve ark.(106) ve Nagy (112) de buzağı septisemilerine karşı korunmada K99 antijenlerinden aşılar hazırlayarak çalışmışlar ve benzer sonuçlar aldıklarını bildirmişlerdir.Nagy ve ark.(113) K88,K99 ve 987P antijenleri ile hazırlanan kombine aşıların,domuzların kolibasillozisten korunmalarında tek tek hazırlananlardan daha iyi koruduğunu savunmaktadır. Bu gün ticari firmalar "Vicogen",Coli-4" gibi isimlerle fimbrial antijenlere dayanan aşılar hazırlamışlardır(2).Sherman ve ark. (144),E.coli K99 antijenlerine karşı hazırlanmış monoklonal antikorların,buzağılara oral yolla verilerek,enterik kolibasillozisten korunabileceğini bildirmektedirler.

Kanatlılarda yapılan bir çalışmada(136),E.coli 02,035,ve 078 serotiplerindeki patojen suşların formalinle inaktive edilmiş yağlı bakterinleri aşı olarak kullanılmış,bu analardan elde edilen civcivlerde,maternal antikorların 15.güne kadar koruyucu titrelerde kaldığı bildirdirilmiştir.

Gyimah ve ark.(74),01,02 ve 078 serotiplerindeki patojen E.coli suşlarından hazırladıkları multivalan pilus aşısı ile piliçleri 4.ve 6.haftalarda iki kez aşılamışlar,aynı suşlarla enfeksiyona karşı,aşılanmamışlarda %8 den %26'ya kadar değişen oranlarda ölümler görülmesine rağmen,aşılanmış piliçlerde ölüm görülmediğini bildirmektedirler.Araştırıcılar,multivalan pilus aşılarıyla tavukların E.coli enfeksiyonlarından korunacağını savunmaktadırlar.

Kanatlılar için patojen olan bölgesel E.coli suşlarındaki spesifik adhezyon faktörlerinin saptanması,teşhis açısından olduğu kadar koruyucu amaçlarla aşı hazırlanması bakımından da yararlı olacağı sanılmaktadır(40,74,154).

MATERYAL VE METOT

Örneklerin Toplanması: Bu çalışmada Konya'nın değişik mahalle ve köylerinde yetiştirici elinde üretilen hindilerin kloakalarından steril sıvaplarla alınan dışkı örneklerinden yararlanıldı. Toplanan 233 dışkı örneğinden 188 E.coli suşu izole edildi. Ayrıca septisemili hindilerin iç organlarından izole edilen 4 E.coli suşu, A.Ü.Vet.Fak.Bakteriyoloji Bilim Dalı'ndan temin edilerek çalışmaya katıldı.

Standart E.coli suşları: Bu amaçla insan, sığır, kobay ve tavşan eritrositleri ile mannoz sensitiv hemagglutinasyon(MSHA) için E.coli K12 ve E.coli Row suşları kullanıldı. İnsan ve sığır eritrositleri ile mannoz rezistan hemagglutinasyon(MRHA) için E.coli 078 suşu, kobay eritrositlerinin MRHA testi için E.coli K12 K88 ve tavşan eritrositlerinin MRHA testi için de E.coli K12 K99 suşları kontrol olarak kullanıldı. Serum rezistan testi E.coli K12 ve Row suşları negatif, E.coli 078 suşu pozitif kontrol olarak tutuldu. E.coli Row suşu kolisine sensitiv, A.Ü.Vet.Fak.'den temin edilen H-44 suşu ise kolisinojenik kontrol suşları olarak kullanıldı.

E.coli K12 ve E.coli Row suşları A.Ü.Vet.Fak.Bakteriyoloji Bilim Dalı'ndan, E.coli 078 suşu Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Enstitüsü'nden, E.coli K12 K88 ve K99 suşları ise Dr.Berit K.Djonne(National Veterinary Institute, Norveç)'den temin edildi.

Besi Yerleri: Dışkı örneklerinden E.coli izolasyonu için MacConkey agar(Oxoid), Eosine Methylen Blue(EMB)agar(Gibco) ve % 5 koyun kanı katılarak hazırlanan Blood Agar Base(Gibco)'den yararlanıldı. E.coli suşlarının identifikasyonu için kullanılan üçlü tüp besi yerleri ise Lassen(97)'e göre hazırlandı.

MRHA ve salt aggregasyon test(SAT) leri için kullanılan kolonizasyon faktör antijen(Colonization Factor Antigen, CFA) agar, Evans ve ark.(51)'na göre, aşağıdaki terkiple hazırlandı: Casamino acide(Difco)% 1, Yeast extract (Difco)% 0.15, Mağnezyum sülfat($MgSO_4$)%0.005, Mangan klorür($MnCl_2$)%0.0005, agar(Difco)%2 ve distile su ile tamamlanan besi yeri, 121°C de 15 dakika otoklavdan sonra pH 7,4 olacak şekilde ayarlandı. Adhezyon testleri

için Triptic soy broth(TSB)(Gibco),kolisin ve hemolizin için % 5 koyun kanı ile hazırlanan Triptic soy agar(TSA)(Difco) kullanıldı.Serum rezistan testleri ise Pepton-Glikoz(PG)buyyon kullanıldı(117).PG buyyon, % 1,0 pepton ve % 1,0 glikozdan hazırlandı.

Civciv patojenite testi ve infantil farede enterotoksijenite testi için kültürlerin üretilmelerinde TSB(Gibco) buyyondan yararlanıldı.Tavşan ince barsak lup testi ile yapılan enteropatojenite testleri için peptonlu su(9,83)kullanıldı.

E.coli suşlarının izolasyon ve identifikasyonları:Hinlerden alınan örnekler direk olarak MacConkey agar,EMB agar ve kanlı agar gibi besi yerlerine ekilerek,37°C de 18-20 saat inkübe edildiler.Makroskobik ve mikroskobik incelemeden sonra E.coli morfolojisi gösteren suşlardan buyyona tek koloni geçildi.Buyyonda 37°C de 18-24 saat üretilen suşlar,tekrar katı besi yerlerine ekilerek,saflıkları kontrol edildi.Saf olan kültürlerden 2-3 koloni tekrar buyyona geçildi.Bu kültürler üçlü tüp'e geçilerek 37°C de bir gece inkübe edildi.Biyokimyasal özelliklerine göre identifikasyonları yapıldı(97).MR, VP ve hemoliz testleri ise klasik metotlara göre yapıldı(9,93). E.coli olarak tanımlanan suşlar,yatık olarak hazırlanan Nutrient agar(Gibco)lara ekilerek 37°C de 18-20 saat üretildikten sonra oda ısısında saklandılar(54).E.coli suşlarının ayda bir pasajları yapıldı.

Hemagglutinasyon Testleri

Eritrositler:MSHA ve MRHA testlerinde,insan(A grubu), sığır,tavuk,kobay ve tavşan eritrositleri kullanıldı.Vericilerden alınan heparin(Liquemine,Roche)li kanlar,800-900 devirde 15 dakika santrifüjle 3 kez yıkandı.Yıkama işleminde pH 7,4 lük PBS kullanıldı.PBS ile "mannozsuz" ve % 1 lik D-mannoz ile "mannozlu" olarak % 5 lik eritrosit süspansiyonları hazırlandı(40).Stok eritrositler,buz dolabında saklandı.Sulandırılmış eritrositler günlük hazırlanırken,3 gün içinde kullanılmayan stok eritrositler atıldı(51).

Sığır,tavuk,kobay ve tavşan kanları Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi ahır,kümes ve deneme hayvanları ünitelerinden,insan kanı Konya Devlet Hastanesi'nden temin edildi.

Hemagglutinasyon testlerinin yapılışı:Evans ve ark.(51)'na göre yapıldı.CFA agarlarda 37°C de bir gece üretilen E.coli suşları,% 5'lik eritrositlerle lam veya fayans üzerinde hemagglutinasyon için muamele edildiler.Bu amaçla,karelere bölünmüş fayans üzerine ayrı ayrı birer damla mannozlu ve mannozsuz eritrosit süspansiyonu kondu.CFA agarda üretilmiş bir kaç koloni,öze ile alınarak önce mannozsuz eritrosit ile iyice homojenize edildi.Oda ısısında 1-2 dakika içinde hemagglutinasyon vermeyenler 10 dakika buz üzerinde tutuldu.Hemagglutinasyon oluşumu gösterenler 3+,2+,+ ve (-) olarak değerlendirildi.Paralel olarak mannozlu eritrositlerle yapılan testlerde de aynı değerde hemagglutinasyon veren suşlar,MRHA pozitif olarak değerlendirildiler.Mannozsuz eritrositlerle hemagglutinasyon oluştururken ,mannozlu eritrositlerle hemagglutinasyon vermeyen E.coli'ler MSHA pozitif olarak kabul edildiler.Her iki ortamda da hemagglutinasyon vermeyen E.coli suşları HA(-) negatif oladeğerlendirildiler(Resim-1).Testler,ayrı ayrı vericilerden alınan 3 değişik eritrositle tekrarlandı.

MRHA oluşturan E.coli suşları oda ısısında(18°C-20°C)48-72 saat inkübe edilerek,mannoz rezistan hemagglutininleri sentezlemeleri açısından,tekrar MRHA testine tabi tutuldu(45).

E.coli'lerin insan,sığır,tavuk ve kobay eritrositleri ile oluşturdukları hemagglutinasyonları ifade eden hemagglutinasyon formüllerinin hazırlanması Evans ve ark.(51)'na göre yapıldı.Bu formüllere göre;örneğin "SNRS" formülünde hemagglutinasyon veren bir E.coli suşu sırasıyla,insan eritrositi ile MSHA , sığır eritrositi ile HA(-),tavuk eritrositi ile MRHA ve kobay eritrositi ile MSHA oluşturmuştur.

Adhezyon Testleri

Epitel hücrelerinin hazırlanması:Bu amaçla,Dho ve Lafont (40) ile Isaacson ve ark.(81)'nın metotlarından yararlanıldı. Dho ve Lafont(40)'un 0,001M MgCl'lü PBS'i yıkama ve sulandırma işlemlerinde,Isaacson ve ark.(81)'nın 2,7 mM KCl'lü PBS'i ise epitel dokusu kazıntılarının hücrelere ayrılmasında dinlendirme amacıyla kullanıldı.

Çalışmada,fötal buzağı barsak ve trachea epitel hücreleri ile tavuk trachea epitel hücreleri kullanıldı.Sığır fötüsleri (6-7 aylık),Konya Et Kombinasından,tavuklar S.Ü.Vet.Fak. kümesinden sağlandı.

Taze olarak laboratuvara getirilen sığır fötüsleri,aseptik şartlarda açıldı.Tracheaların tamamı ve ince barsakların distal yarısı, içlerinde 0,001 M MgCl'lü PBS(PBSM) bulunan erlenmayerlere ayrı ayrı alındılar.Kontaminasyonları önlemek amacıyla PBSM içerisine antibiyotik(16 İÜ/ml penisilin,0.027 mg/ml streptomisin) kondu.Hemen hazırlanmayan dokular +4°C de saklandılar.Trachea dokuları steril bistürilerle kazınarak,barsak dokuları ise içerikleri PBSM ile boşaltıldıktan sonra ters yüz edilip steril fırçalarla fırçalanarak,epitel dokusu kazıntıları elde edildi.Bu kazıntılar,içlerinde 2.7 mM KCl'lü PBS (8mM Na_2HPO_4,15 mM KH_2PO_4, 2.7 mM KCl,0.137 M NaCl.,pH7.5)bulunan 100 ml'lik erlenlere kondular.Bir gece +4°C de tutuldular.Epitel dokusu kazıntıları 700 devirde 15 dakika santrifüje edilerek,soğuk PBSM ile 3 kere yıkandı.Tortu halindeki epitel hücreleri,Breed metodu (9) ile,$4x10^6$ hücre/ml olacak şekilde sulandırıldılar.Tavuk trachea epitel hücrelerinin hazırlanması da aynı şekilde yapıldı.Hazırlanan hücre süspansiyonları ve stok hücreler 15 günde bir PBSM ile yıkanıp,2 ay saklandılar (81).

Adhezyon testleri için kültürlerin hazırlanması:Bu amaçla TSB buyyon kültürleri kullanıldı(40).Stok kültürlerden nutrien agarlara azaltma yöntemi ile ekimler yapıldı.Bir gece 37°C'lik etüvde inkübe edildiler.Saf bir koloni alınarak TSB buyyona geçildi. Aynı ısı ve süre inkübasyonu takiben gram boyama metodu ile kontrolleri yapıldıktan sonra,2000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek 0.15 M NaCl sol. ile yıkandı.PBS ile 540 nanometre(nm)de sıfırlanmış spektrofotometrede(Bosch,spectronic 20) Mc farland no:2'nin karşılığı olan absorbans(0.13 nm.)da,yaklaşık $6x10^8$ bakteri/ml olacak şekilde sulandırıldılar(40).

Adhezyon testlerinin yapılışı:Küçük tüplere (100x12mm) bir seri 0.5 ml'lik hücre süspansiyonları hazırlandı.Üzerlerine eşit miktarlarda bakteri süspansiyonlarından kondu.Her denemede bir tüp hücreli E.coli K12 suşu ve bir tüp bakterisiz hücre kontrol olarak tutuldu.Bakterilerin hücrelere adhezyonlarını sağlamak

amacıyla 37°C ye ayarlanmış çalkalayıcı benmaride 60-90 dakika inkübe edildiler.Bakteri-hücre karışımı süspansiyon,adi filtre üzerinde süzüldü.Fizyolojik tuzlu su ile 4-5 kere yıkandı.Filtre kağıtlarının üst yüzleri lamlara sürülerek preparatlar hazırlandı.Jansiyan moru ile boyanan preparatlar immersiyon objektifi ile incelendiler.Her preparatın değerlendirilmesi,bakterisiz mikroskop sahalarındaki ilk 20 epitel hücresine tutunmuş bakteri miktarlarının tespit edilmesi ile yapıldı.Her preparatda,bir epitel hücresine tutunmuş ortalama bakteri miktarı(Adhezyon indeksi Aİ) $\geq$ 5 ve enazından 5 bakteri tutunmuş hücre oranı(Adhezyon oranı AO) $\geq$ % 30 olan suşlar,"adhezyon pozitif" olarak kabul edildiler(40).Dho ve Lafont(40)'un tutunmamış bakterileri süzmek için kullandıkları polikarbonat filtreler temin edilemediğinden adi filtre kağıtları kullanılmıştır.

Belirgin bir çekirdeğe sahip olmayan parçalanmış hücreler ve doku artıkları dikkate alınmadı(40,81,108).

Salt Aggregasyon Testi(SAT):Faris ve ark.(58)'na göre yapıldı.Bu amaçla 0.15 M NaCl solusyonu ile değişik konsantrasyonlarda(0.05,0.1,0.5,1.0,1.5,2.0 ve 3.0 M) amonyum sülfat süspansiyonları hazırlandı.Test suşları CFA agarlara ekilerek,37°C de bir gece üretildi.Lam üzerinde bir damla amonyum sülfat solusyonu ile birkaç koloni kültür karıştırılarak homojenize edildi. Bir iki dakika rotasyonla kümeleşme oluşumu gözlendi.Test suşlarının kümeleşme gösterdikleri en küçük amonyum sülfat molaritesi,SAT değeri olarak değerlendirildi.Kontrol olarak,E.coli K12 suşu ve 0.15 M NaCl sol. kullanıldı.

Serum Rezistan Testi (SR):Nilus ve Savage (117)'nin kalitatif metodu ile yapıldı.Sağlıklı sığır ve tavuklardan alınan kanların serumları çıkarıldı.Yüksek devirde (3000 dev.de 15 dak.)santrifüj edildikten sonra,0.45 um membran filtrelerden süzüldü.Sterilitesinin kontrolu için kanlı agarlara ekildiler.E.coli K12 ve Row suşları için bakteriostatik etki gösteren serumlar,test suşlarının SR testlerinde kullanıldılar.Serumlar, +4°C de saklandı.Bir haftadan eski serumlar,kullanılmadı.

Test ve kontrol suşları PG buyyona ekildiler.Bir gece 37°C de üretildiler.Bu kültürlerden 0.1 ml alınarak tekrar 5 ml PG buyyona geçildi ve 37°C ye ayarlı çalkalayıcı benmaride

1-2 saat üreme(exponential) fazına girinceye kadar inkübe edildiler.Bu arada,spektro tüplerine 2.5'er ml'lik ,bir seri PG buyyon ve bir seri % 5 lik serumlu PG buyyon kondu.Bu besiyerleri aynı benmaride ılıtıldı.Üreme fazındaki test kültürlerinden her suş için 0.5 ml PG buyyona ve 0.5 ml serumlu PG buyyona kondu. Çalkalayıcı benmaride 5 saat inkübasyonu takiben,heriki besiyerindeki bulanıklık karşılaştırılarak değerlendirildiler.Değerlendirme, gözle (117) ve spektrofotometre ile yapıldı.Spektrofotometrik değerlendirmede Nilus ve Savage(117)'nin birinci ölçüm tekniği ve klasik metotlardan(7) yararlanıldı.Örnekler , inkübasyon başlangıcında ve bitiminde spektrofotometre ile ölçülerek, optik dansiteleri(OD) kaydedildi.Serumlu buyyon(Sb) OD'sinin,buyyon(b) OD'sine oranı (Sb/b) $\leq$ 0.7 değerde olan suşlar, "serum sensitiv" kabul edildiler.

Kolisin Aranması:Djonne (43) tarafından bildirilen metoda göre yapıldı.Bu amaçla TSB buyyonlarda 37°C de bir gece üretilmiş test suşları % 5 koyun kanlı hazırlanmış TSA agarlara hat şeklinde ekildi.Bir gece 37°C de inkübe edildi.Desikatör içinde 1-2 saat kloroform buharına tutulan kültürler,steril lamlarla agar yüzeyinden kazınarak alındılar.Tekrar 30 dak. kloroform buharına bırakılan kültürler 1 saat kadar petri kapakları yarı açık tutularak kloroformun uçması sağlandı.Kanlı TSA agarda üretilmiş ve bir kolonisi 5 ml FTS ile homojenize edilmiş E.coli Row suşundan,üreme hattına dikey olarak ekildi.Oda ısısında 1 saat kadar tutulan kültürler,37°C de bir gece inkübe edildiler. Ekim hatlarının kesişim noktasında inhibisyon oluşumu,test suşunun kolisin aktivitesi olarak değerlendirildi.Her denemede H-44 suşu kontrol olarak tutuldu.

Civciv Patojenite Testi:Bu amaçla Dho ve Lafont(39)'un metodundan yararlanıldı.E.coli kültürleri bu araştırıcıların bildirdiklerinden farklı olarak oral yolla verildi.Bu testte, her E.coli suşu 1 günlük 5 civciva 0,1 ml miktarında verildi. E.coli suşları TSB buyyonlara ekilerek 37°C de 18-20 saat üretildiler.Beşli gruplar halinde ayrı bölmelerde tutulan civcivler 7 gün süreyle hastalanma ve ölme yönünden kortrol edildiler. Agoni durumundaki veya yeni ölmüş civcivlere otopsi yapıldı.Karaciğer,akciğer,hava keseleri,kalp kanı,yumurta sarısı kesesi ve

barsaklardan katı besiyerlerine ekimler yapılarak,E.coli izolasyonuna çalışıldı.Birden fazla civciv ölümüne neden olan E.coli suşları "patojen" olarak değerlendirildi.E.coli suşları,öldürdükleri civciv miktarına göre(0-1 civciv öldürenler apatojen, 2-3 civciv öldürenler orta patojen ve 4-5 civciv öldürenler çok patojen şeklinde) 3 gruba ayrıldılar.Her denemede 15 civcive TSB buyyon verilerek kontrol olarak tutuldu.

Denemelerde kullanılan civcivler,Altıncivciv Tavukçuluk İşletmesi(Çumra/Konya)'ndan temin edildi.Kuluçkadan çıkan civcivler aynı gün getirilerek uygun ısı(28-30°C) ve beslenme(adlibitum) şartlarında tutuldular.

Enteropatojenite Testi: İstanbulluoğlu(83), tarafından bildirilen metoda göre yapıldı.Testlerde 1.5-2 kg. ağırlığındaki Yeni Zelanda ırkı tavşanlardan yararlanıldı.Bu amaçla 24 saat aç bırakılan tavşanlara,Ketalar(Eczacıbaşı) ve Rompun(Bayer)kombinasyonu ile anestezi yapıldıktan sonra laparatomi uygulandı. Kör barsağın 80 cm anterioruna bir ligatür konarak,kör barsağa doğru 6-8 cm'lik bir uzun,2-3 cm lik bir kısa şeklinde,bölmeler hazırlandı.Uzun bölmelere test suşlarının 6-8 saatlik peptonlu su kültürlerinden 1 ml miktarında enjekte edildi.Peptonlu su ve PBS,birer bölmeye aynı miktarlarda enjekte edilerek negatif kontrol olarak kullanıldı.Barsak bölmeleri karın boşluğuna yerleştirildikten sonra,ensizyon yeri basit dikişlerle kapatıldı. Oda sısında 8-10 saat tutulan tavşanlar,damariçi kloralhidrat uygulanarak uyutuldular.İnce barsak bölmelerindeki gaz,sıvı birikimi ve hemoraji oluşumları kontrollerle karşılaştırılarak değerlendirildi.

Enterotoksijenite Testi: Blobel ve Schlieber(24), tarafından bildirilen metoda göre yapıldı.Bu amaçla,S.Ü.Vet.Fak.deneme hayvanları ünitesinden temin edilen 1-4 günlük süt emen(infantil) beyaz fareler kullanıldı.TSB buyyonlara ekilen test suşları,37°C de 16-18 üretildi.Yaklaşık 4000 dev.de 40 dak.santrifüje edilen kültürlerin üst sıvısından farelere intragastirik yolla 0,1 ml enjekte edildi.Oda ısısında 4 saat tutulan fareler,kloroformla öldürüldükten sonra,barsak ağırlıkları ve geriye kalan vücut ağırlıkları hassas terazide tartıldı.Barsak ağırlıklarının,geriye kalan vücut ağırlıklarına oranı 0,085 veya daha yukarı değerde olanlar enterotoksijenik kabul edildi.Her E.coli suşu,3 farede test edildikten sonra değerlerin ortalaması alındı.

BULGULAR

E.coli'lerin biyokimyasal özellikleri: Çalışmada incelenen toplam 192 E.coli suşunun biyokimyasal özellikleri tablo-1 de gösterilmiştir. İncelenen suşların tamamı, E.coli'ye özgü biyokimyasal özellikleri göstermişlerdir.

Tablo-1 192 E.coli suşunun biyokimyasal özellikleri

Testler	pozitif		negatif	
	n	%	n	%
Laktoz	187	97.3	5	2.7
Glikoz	192	100.0	-	0,0
H_2S	-	0,0	192	100.0
İndol	192	100.0	-	0.0
Üreaz	-	0.0	192	100.0
Mannitol	192	100.0	-	0.0
Nitrat	192	100.0	-	0.0
Hareket	157	81.7	35	18.3
TD^x	-	0.0	192	100.0
MR	192	100.0	-	0.0
VP	-	0.0	192	100.0
Hemoliz	-	0.0	192	100.0

TD^x : Triptofan deaminaz

MR : Metil red, VP : Voges Proskauer

Hemagglutinasyon Testleri: İnsan, sığır, tavuk, kobay ve tavşan eritrositleri ile incelenen 192 E.coli suşunun mannoz sensitiv(MS) ve mannoz rezistan(MR) hemagglutinasyon(HA) verileri tablo-2'de gösterilmiştir. Hemagglutinasyon verileri tüm eritrositlerle genelleştirildiğinde; 74 suş MSHA, 62 suş MRHA oluştururken, 56 suş HA(-) negatif bulunmuştur.

MSHA testlerinde, insan eritrositleri ile 1 (9 no'lu), kobay eritrositleri ile 3(13,34,38 no'lu) ve sığır eritrositleri ile 2 (48ve 50 no'lu) suş farklı sonuçlar verdi. Tüm suşların HA ve diğer özellikleri tablo-3'te görülmektedir.

MRHA testlerinde ise,tekrarlanabilirlik aynı oranda bulundu.Tavuk eritrositleri ile MRHA'a rastlanmadı.MRHA verilerinin bazıları sadece buz üzerinde uygulama ile alındı.Buz üzerindeki testlerde; 43 ve 44 no'lu suşlar insan eritrositleri ile ve 5 no'lu suş tavşan eritrositleri ile MRHA oluşturdular.Diğer E.coli'ler oda ısısında ve buz üzerinde aynı değerde MRHA verdiler. Oda ısısında(18°C-20°C) üretilmiş kültürlerle yapılan MRHA testlerinde,37°C de MRHA veren suşların suşların hiçbirisi bu özelliğini tekrarlayamadı.

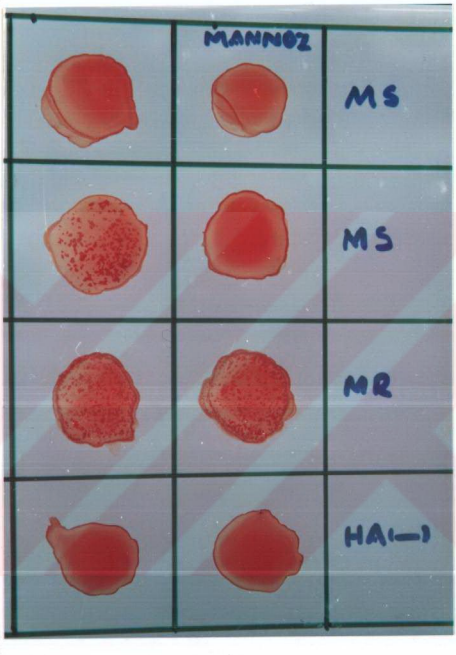
Tablo-2 192 E.coli suşunun HA özellikleri

HA tipi	İnsan		Sığır		Tavuk		Kobay		Tavşan		Genel*	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
MSHA	33	17.2	5	2.6	92	47.9	104	54.2	32	16.6	74	38.5
MRHA	43	22.4	12	6.3	0	0.0	7	3.6	24	12.5	62	32.3
HA(-)	116	60.4	175	91.1	100	52.1	81	42.2	136	78.8	56	29.2

(x):Çalışmada kullanılan 5 eritrosit ile HA vermeyen suşlar HA(-)negatif,en az biri ile mannoz rezistan hemagglutinasyon veren suşlar"MRHA" ve en azından bir eritrositle mannoz sensitiv hemagglutinasyon veren suşlar ise"MSHA" olarak genelleştirildiler.

İnsan(İs),sığır(Sğ),tavuk(Tv) ve kobay(Kb) eritrositleri ile bir E.coli suşunun oluşturduğu hemagglutinasyon tiplerinin, aynı sırayla ve yanyana gösterilmeleri şeklinde hazırlanan HA formüllerinin tüm E.coli suşları için 23 farklı şekli tespit edildi.Tablo-4'te görüldüğü gibi, NNNN , NNSS , SNSS ,RNSS ve NNNS formülleri sırasıyla,% 29,2 ,% 18,2 ,%10,4 ,% 9,9 ve % 7,3 oranlarında bulundu.Geriye kalan(% 25 oranındaki) E.coli suşları 18 farklı HA formülü oluşturdu.

Mannoz rezistan hemagglutinasyon oluşturan 62 E.coli suşunun MRHA verdiği eritrositler ve patojenik özellikleri tablo-5'te



Resim-1 Hemagglutinasyon Testleri
MS mannoz sensitiv, MR mannoz rezistan ve
HA(-)negatif hemagglutinasyonları ifade etmektedir.

Tablo-3 İncelenen E.coli suşlarının toplu özellikleri

Suş no	HEMAGGLUTİNASYON İs.	Sğ.	Tv.	Kb.	Tş.	Adhezyon Bb	Bt	Tt	SAT ..M.	SR SğS	TvS	Civc. Pat.	TLT	İFT
1	N	N	N	N	N	-	-	-	2	r	r	0/5	-	-
2	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	1/5	-	-
3	N	N	N	S	S	-	-	-	2	r	r	3/5	+	-
4	R	N	S	S	S	+	-	+	0.05	r	r	3/5	+	+
5	S	R	S	S	R	+	+	+	0.5	r	r	4/5	+	+
6	S	N	N	N	N	-	-	+	N	r	r	3/5	-	-
7	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	2/5	+	+
8	R	R	N	R	R	+	+	+	0.05	r	r	2/5	-	-
9	S	N	N	N	N	+	+	+	2	r	r	2/5	+	+
10	N	N	N	S	N	+	+	-	N	r	r	1/5	+	-
11	N	N	N	N	N	-	-	+	N	r	r	1/5	+	-
12	N	N	N	N	N	-	-	+	3	r	r	3/5	+	+
13	N	N	N	S	N	+	+	+	N	r	r	1/5	-	-
14	N	N	S	S	S	+	-	+	0.5	r	r	2/5	-	-
15	N	N	N	N	N	-	-	-	3	r	r	1/5	-	-
16	N	N	N	S	N	-	-	-	2	r	r	3/5	-	-
17	S	N	S	S	S	+	-	-	0.05	r	r	3/5	+	+
18	S	R	S	S	R	+	+	+	1	r	r	3/5	+	+
19	N	N	N	N	N	-	-	+	N	r	r	3/5	-	-
20	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	2/5	+	-
21	R	N	N	N	R	+	+	+	0.05	r	r	2/5	-	-
22	N	N	N	N	N	-	+	+	2	r	r	2/5	+	-
23	R	N	S	S	N	+	+	+	1	r	r	1/5	-	-
24	R	N	S	S	S	+	+	+	1	r	r	4/5	-	-
25	R	N	N	S	N	-	-	+	3	r	r	2/5	-	-
26	N	N	N	N.	N	+	+	+	3	r	r	1/5	-	-

Hemagglutinasyon: (İs)-insan, (Sğ)-sığır, (Tv)-tavuk, (Kb)-kobay, (Tş)-tavşan eritrositleri ile HA, (R): MRHA, (S): MSHA, (N): HA(-)

Adhezyon: (Bb)-buzağı barsak, (Bt)-buzağı trachea, (Tt)-tavuk trachea epitel hücreleri ile adhezyon, (+)pozitif, (-)negatif reaksiyon

(SAT): (Salt aggregasyon testi): (...M): amonyum sülfat molaritesi (N): test edilen molaritelerde çökelti yapmayan.

SR (serum rezistan) testi: SğS: sığır serumu, TvS: tavuk serumu, (r) test edilen seruma rezistan, (s) test edilen seruma sensitiv.

Civc.Pat. (Civciv patojenite testi), TLP (Tavşan ince barsak lup testi)

İFT (İnfantil fare testi)

Suş	HEMAGGLUTİNASYON					Adhezyon			SAT	SR		Civc.	TLT	İFT
no	İs.	Sğ.	Tv.	Kb.	Tş.	Bb	Bt	Tt	..M	SğS	TvS	Pat.		
27	N	N	N	N	N	+	-	-	3	r	r	2/5	-	-
28	R	N	N	N	N	+	-	-	1	r	r	2/5	-	-
29	R	N	N	S	N	-	+	+	1.5	r	r	2/5	-	-
30	S	N	S	S	S	-	+	-	1	r	r	1/5	-	-
31	S	N	S	S	S	-	+	+	0.5	r	r	3/5	-	-
32	N	N	N	N	N	-	-	+	N	r	r	2/5	-	-
33	N	N	N	N	N	-	+	+	N	r	r	2/5	-	-
34	S	N	S	N	N	+	+	+	1	r	r	1/5	-	-
35	S	N	S	S	S	-	+	+	3	r	r	0/5	-	-
36	R	N	N	S	S	-	+	-	2	r	r	0/5	-	-
37	N	N	N	S	N	-	-	-	N	r	r	0/5	-	-
38	N	R	S	N	N	-	+	+	1	s	r	1/5	-	-
39	N	N	N	S	S	-	-	-	N	r	r	4/5	+	+
40	N	N	N	N	N	-	-	+	3	r	r	4/5	+	+
41	N	N	N	N	N	-	-	-	3	r	r	3/5	+	-
42	R	S	N	S	S	+	-	+	0.5	r	r	1/5	-	-
43	R	N	N	N	N	-	-	-	2	r	r	0/5	+	-
44	R	N	N	N	N	+	+	+	N	r	r	3/5	-	-
45	N	N	S	S	N	-	-	+	2	r	r	3/5	+	-
46	N	N	N	N	N	-	-	+	3	r	r	2/5	+	-
47	S	R	S	R	R	+	+	+	2	r	r	0/5	-	-
48	S	N	S	S	N	-	+	+	0.5	r	r	3/6	-	-
49	N	N	N	S	N	+	-	+	1	r	r	3/5	-	-
50	S	N	S	S	R	+	-	-	3	s	r	0/5	-	-
51	S	N	S	S	N	-	+	-	2	r	r	2/5	-	-
52	S	N	S	S	S	-	+	+	2	r	r	2/5	-	-
53	N	N	N	S	N	-	-	-	2	r	r	0/5	-	-
54	N	N	S	S	S	+	+	+	0.05	s	r	1/5	-	-
55	S	R	S	S	R	+	+	+	1.5	r	r	1/6	-	-
56	N	N	S	S	N	-	-	+	1.5	r	r	4/5	-	-
57	S	N	S	S	S	+	+	+	3	r	r	2/5	-	-
58	N	N	S	S	N	-	-	+	2	s	r	3/5	-	-
59	N	N	S	S	S	-	-	+	3	s	r	3/5	-	-
60	N	N	N	S	N	+	+	+	3	r	r	2/5	-	-
61	N	N	N	N	N	-	-	-	2	r	r	0/5	-	-
62	N	N	S	S	R	+	+	+	2	s	r	3/5	-	-
63	S	N	N	N	N	+	-	-	N	r	r	1/5	-	-

Suş no	HEMAGGLUTİNASYON İs.	Sğ.	Tv.	Kb.	Tş.	Adhezyon Bb	Bt	Tt	SAT ..M.	SR SğS	TvS	Civc. Pat .	TLT	İFT
64	S	N	S	S	S	+	+	+	1	s	r	0/5	-	-
65	N	N	N	N	N	-	-	-	2	r	r	2/5	+	-
66	N	N	S	S	R	+	+	+	0.5	r	r	1/5	+	-
67	N	R	S	R	N	+	+	+	0.5	r	r	1/5	-	-
68	N	N	S	S	N	-	-	+	1.5	r	r	1/5	-	-
69	R	N	S	N	N	+	-	+	N	r	r	2/5	+	-
70	N	N	N	N	N	-	-	-	3	r	r	2/5	+	-
71	N	N	S	S	S	+	+	+	0.5	r	r	2/5	+	+
72	N	N	N	N	N	-	-	+	2	r	r	0/5	+	-
73	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	0/5	+	-
74	N	N	S	S	N	+	+	+	0.5	r	r	3/5	-	-
75	R	N	N	N	N	+	+	+	0.5	r	r	2/5	-	-
76	S	N	S	S	S	+	+	+	0.5	r	r	0/5	-	-
77	N	N	N	N	N	-	+	+	2	r	r	4/5	+	-
78	N	N	N	N	N	+	+	+	2	r	r	3/5	+	+
79	S	N	S	S	R	+	+	+	0.1	r	r	1/5	+	-
80	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	1/5	+	+
81	S	N	S	S	S	-	-	+	1.5	r	r	0/5	+	+
82	N	N	N	N	N	-	-	-	2	r	r	1/5	+	+
83	N	N	N	S	R	-	-	-	2	r	r	0/5	+	-
84	R	N	N	N	N	-	-	-	N	s	r	1/5	+	-
85	S	N	S	S	S	+	+	+	0.1	r	r	3/5	-	-
86	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	2/5	-	-
87	N	N	N	N	N	+	+	+	2	r	r	3/5	-	-
88	R	N	N	S	R	-	+	-	0.05	r	r	3/5	-	-
89	S	N	S	S	S	-	-	-	0.05	r	r	3/5	-	-
90	N	N	N	N	N	-	-	-	1	s	s	0/5	-	-
91	S	N	S	S	R	+	+	+	3	s	s	1/5	+	-
92	N	N	S	S	N	+	+	+	0.05	r	r	1/5	+	-
93	N	N	N	N	N	+	+	+	N	r	r	4/5	+	+
94	N	N	S	S	N	+	+	+	2	r	r	1/5	+	-
95	N	N	S	S	N	+	+	+	0.05	r	r	1/5	-	-
96	N	S	N	S	N	+	+	+	1	r	r	3/5	-	-
97	N	R	S	S	N	+	+	+	0.5	r	r	2/5	-	-
98	N	S	N	N	N	+	+	+	0.5	r	r	2/5	-	-
99	N	N	S	S	N	+	+	+	2	r	r	2/5	-	-
100	N	N	S	S	N	-	-	-	1	s	r	2/5	-	-

Suş	HEMAGGLUTİNASYON					Adhezyon			SAT		SR		Civc.	TLT	İFT
no	İs.	Sğ.	Tv.	Kb.	Tş.	Bb	Bt	Tt	..M.		SğS	TvS	Pat .		
101	N	N	N	N	N	-	-	-	N		r	r	3/5	+	+
102	R	N	S	S	N	+	+	+	3		r	r	2/5	-	-
103	N	N	S	S	N	+	+	+	2		s	r	0/5	+	-
104	S	N	S	N	N	+	-	+	N		s	r	0/5	-	-
105	N	N	S	S	N	+	+	+	N		s	r	1/5	-	-
106	N	N	S	S	N	+	+	+	1		s	r	2/5	-	-
107	R	N	N	N	N	-	-	-	0.05		r	r	3/5	-	-
108	R	N	S	S	N	+	-	+	0.5		r	r	4/5	-	-
109	N	N	N	N	N	-	+	+	N		r	r	0/5	-	-
110	N	N	N	N	N	-	+	+	2		r	r	0/5	-	-
111	R	N	S	S	R	-	+	+	1		r	r	2/5	-	-
112	R	N	S	S	N	+	+	+	3		r	r	3/5	-	-
113	N	N	N	N	N	-	-	-	N		s	r	0/5	-	-
114	N	N	S	S	N	-	-	+	3		r	r	2/5	-	-
115	N	N	S	S	N	+	+	+	3		r	r	4/5	-	-
116	N	N	N	N	N	+	-	-	3		r	r	4/5	-	-
117	N	N	S	S	N	+	-	+	3		r	r	2/5	-	-
118	N	N	S	S	N	+	-	+	3		r	r	2/5	-	-
119	N	N	N	N	N	-	+	+	3		r	r	0/5	-	-
120	R	N	N	S	R	+	-	+	3		r	r	3/5	-	-
121	R	N	S	S	N	+	+	+	1		r	r	0/5	-	-
122	R	N	S	S	S	+	+	+	1		r	r	3/5	-	-
123	N	N	N	N	N	+	+	-	3		r	r	0/5	-	-
124	N	N	N	N	N	+	+	-	3		r	r	0/5	-	-
125	R	N	N	N	N	-	+	+	1		r	r	2/5	-	-
126	R	N	S	N	N	-	+	+	1.5		r	r	3/5	-	-
127	S	N	S	N	N	-	+	-	1		r	r	0/5	-	-
128	S	N	S	R	N	-	+	-	3		r	r	0/5	-	-
129	R	N	N	S	R	-	+	+	2		r	r	0/5	-	-
130	N	N	N	S	N	-	+	-	N		r	r	0/5	+	-
131	S	R	S	S	R	+	+	+	1.5		s	r	1/5	-	-
132	R	N	S	S	N	+	+	+	2		r	r	2/5	-	-
133	R	N	S	S	S	+	+	+	1		s	r	0/5	+	-

Suş	HEMAGGLUTİNASYON					Adhezyon			SAT	SR		Civc.	TLT	İFT
no	İs.	Sğ.	Tv.	Kb.	Tş,	Bb	Bt	Tt	..M.	SğS	TvS	Pat .		
134	N	N	S	S	R	+	+	+	0.5	s	r	1/5	-	-
135	N	R	N	R	N	+	+	+	0.5	r	r	0/5	-	-
136	R	N	S	R	N	+	-	-	N	r	r	2/5	-	-
137	R	N	S	S	R	-	+	+	0.05	r	r	3/5	-	-
138	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	0/5	-	-
139	R	N	S	S	N	+	+	+	3	r	r	3/5	-	-
140	S	N	S	N	N	+	-	+	N	r	r	0/5	-	-
141	N	N	S	S	N	+	-	-	3	s	r	3/5	-	-
142	N	N	S	S	S	+	+	+	0.5	r	r	2/5	-	-
143	N	N	N	N	N	+	+	+	3	r	r	0/5	-	-
144	R	R	N	R	R	+	+	+	0.05	r	r	2/5	-	-
145	R	N	S	S	R	-	-	+	0.05	r	r	3/5	-	-
146	N	N	N	N	N	+	+	-	2	r	r	0/5	-	-
147	S	N	S	S	S	-	-	+	0.05	r	r	2/5	-	-
148	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	1/5	-	-
149	N	N	S	S	N	+	+	+	0.5	s	r	2/5	-	+
150	N	N	S	S	N	-	-	+	2	s	r	3/5	-	-
151	N	N	S	S	N	+	+	+	0.05	r	r	0/5	-	-
152	N	N	N	N	N	+	+	+	N	r	r	3/5	+	-
153	N	N	S	S	N	+	+	+	2	r	r	3/5	+	+
154	N	N	S	S	N	+	+	+	0.05	r	r	0/5	-	-
155	N	S	N	S	N	+	+	+	1	r	r	0/5	-	-
156	R	N	S	S	N	-	-	+	0.5	r	r	0/5	-	-
157	N	R	S	S	N	+	+	+	0.5	r	r	1/5	-	-
158	N	S	N	N	N	+	+	+	0.5	r	r	2/5	-	-
159	S	N	S	S	S	-	+	+	0.5	r	r	3/5	-	-
160	N	N	N	N	N	-	+	+	N	r	r	1/5	-	-
161	N	N	N	N	N	-	-	-	3	r	r	0/5	+	-
162	N	N	N	N	N	-	-	-	3	r	r	1/5	+	-
163	R	N	N	N	N	-	-	-	0.1	r	r	0/5	+	-
164	R	N	N	N	N	+	+	+	3	r	r	3/5	+	-
165	N	N	N	N	N	-	-	-	3	r	r	1/5	+	-
166	N	N	S	N	N	-	-	+	1.5	r	r	4/5	-	-
167	R	N	N	S	N	-	-	-	3	r	r	2/5	-	-

Suş no	HEMAGGLUTİNASYON İs.	Sğ.	Tv.	Kb.	Tş.	Adhezyon Bb	Bt	Tt	SAT ..M.	SR SğS	TvS	Civc. Pat .	TLT	İFT
168	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	0/5	-	-
169	N	N	N	S	N	+	-	+	1	r	r	2/5	-	-
170	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	0/5	+	-
171	N	N	S	S	N	-	-	-	2	r	r	3/5	+	-
172	S	N	S	S	S	-	+	+	2	r	r	2/5	-	-
173	N	N	N	N	N	-	+	-	N	s	r	1/5	+	-
174	N	N	S	S	S	-	-	+	3	s	r	1/5	+	-
175	N	N	N	S	N	+	+	+	3	r	r	0/5	-	-
176	N	N	S	S	R	+	+	+	2	s	r	1/5	-	+
177	S	N	N	N	N	+	+	-	N	r	r	1/4	-	-
178	N	N	N	N	N	-	-	-	2	s	r	1/5	+	-
179	N	N	N	N	N	-	-	-	3	r	r	0/5	-	-
180	N	N	N	S	S	-	-	+	2	r	r	4/5	+	+
181	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	0/5	+	-
182	S	N	S	S	S	+	+	-	0.5	r	r	0/5	-	-
183	N	N	N	N	N	-	+	+	2	r	r	4/5	+	-
184	N	N	N	N	N	-	+	-	2	r	r	1/5	+	+
185	N	N	N	N	N	-	-	-	2	r	r	0/5	+	+
186	N	N	S	S	N	+	+	+	2	r	r	3/5	-	-
187	R	N	N	N	N	+	+	+	0.5	r	r	2/5	-	-
188	N	N	N	N	N	-	-	-	N	r	r	0/5	-	-
H-15	R	N	S	S	N	+	+	+	1.5	r	r	2/5	-	-
H-19	R	N	S	S	S	+	+	+	0.5	r	r	4/5	-	-
H-44	R	N	S	S	S	+	+	+	0.5	r	r	4/5	-	-
H-51	R	N	S	S	N	+	+	+	1.5	r	r	2/5	-	-

Tablo:4 192 E.coli suşunun Hemagglutinasyon formüllerine göre Adheryon, Salt Agregasyon, Serum Rezistan, Kolisin, Patojenite ve Toksijenite özellikleri

HEMAGGLUTİNASYON FORMÜLÜ İNSAN	SIĞIR	TAVUK	KOBAY	....HA formülü sayı	ADHEZYON Buzağı barsak (+) n	%	Buzağı barsak (-) n	%	Buzağı trachea (+) n	%	Buzağı trachea (-) n	%	Tavuk trachea (+) n	%	Tavuk trachea (-) n	%	SAT 1.5≤ n	%	2≥ n	%	SR 0.70≤ n	%	0.70> n	%	KOLİSİN n	ÇİVÇİV PATOJENİTE TESTİ n	%	TAVŞAN LUP TESTİ n	%	İNFANTİL FARE TESTİ n	%
N	N	N	N	56	29,2	12	21.4	44	78.6	18	32.1	38	67.9	20	35.7	36	64.3	1	1.8	55	98.2	4	7.1	52	92.9	2	22	39.3	29	51.8	10	17.8
S	N	S	S	20	10.4	9	45.0	11	55.0	15	75.0	5	25.0	14	70.0	6	30.0	13	65.0	7	35.0	3	15.0	17	85.0	-	11	55.0	4	20.0	2	10.0
N	N	S	S	35	18.2	24	68.7	11	31.4	21	60.0	14	40.0	32	91.4	3	8.6	17	48.6	18	51.4	14	40.0	21	60.0	2	23	65.7	7	20.0	3	8.6
N	N	N	S	14	7.3	5	35.7	9	64.3	5	35.7	9	64.3	6	42.9	8	57.1	2	14.	12	85.7	-	0.0	14	100.0	2	7	50.0	7	50.0	2	14.3
S	N	N	N	4	2.1	3	75.0	1	25.0	2	50.	2	50.	2	50.	2	50.	-	0.	4	100.	-	0.	4	100.	-	2	50 0	1	25.0	1	25.0
R	N	N	N	11	5.7	6	54.5	5	45.5	6	54.5	5	45.5	6	54.5	5	45.5	6	54.5	5	45.5	1	9.1	10	90.9	-	8	72.7	3	27.3	-	-
R	N	N	S	7	3.6	1	14.3	6	85.7	4	57.1	3	42.9	4	57.1	3	42.9	2	28.6	5	71.4	-	0.	7	100.	-	5	71.4	-	0.	-	0,0
R	N	S	S	19	9.9	16	84.2	3	15.8	15	78.9	4	21.1	19	100.	-	0.0	15	78.9	4	21.1	1	5.3	18	94.7	4	15	78.9	2	10.5	1	5.3
R	R	N	R	2	1.04	2	100.	-	0.0	2	100.	-	0.	2	100.	-	0	2	100.	-	0.	-	0.0	2	100.	-	2	100.0	-	0.	-	0.0
R	N	S	N	2	1.04	1	50.	1	50.0	1	50.	1	50	2	100.	-	0.	1	50	1	50	-	0.	2	100.0	-	2	100.0	1	50.	-	0.0
R	S	N	S	1	0.52	1	100	-	0.0	1	100.	-	0.	1	100	-	0	1	100.	-	0	-	0.	1	100.	-	-	0.	-	0	-	0.0
R	N	S	R	1	0.52	1	100	-	0.0	-	0.	-	100	-	0.	1	100	-	0	1	100.	-	0.	1	100.	-	1	100.	-	0.	-	0.0
S	R	S	S	4	2.1	4	100.	-	0.0	4	100.	-	0.	4	100.	-	0.	4	100.	-	0.	1	25.	3	75	2	2	50.	2	50.	2	50.0
S	N	S	N	4	2.1	3	75.	1	25.0	2	50.	2	50	3	75	1	25	2	50	2	50	1	25	3	75	-	-	0.	-	0.	-	0.0
N	R	S	S	2	1.04	2	100.	-	0.0	2	100.	-	0.	2	100	-	0.0	2	100.	-	0.	-	0.	2	100	-	1	50.	-	0.	-	0.0
N	S	N	N	2	1.04	2	100.	-	0.0	2	100.	-	0.	2	100.	-	0.	2	100.	-	0.	-	0	2	100	-	2	100.	-	0.	-	0.0
N	R	N	R	1	0.52	1	100.	-	0.0	1	100.	-	0.	1	100.	-	0.	1	100.	-	0.	-	0	1	100	-	-	0.	-	0.	-	0.0
S	N	S	R	1	0.52	-	0,	1	100.	1	100.	-	0.	-	0.	1	100	-	0.	1	100.	-	0	1	100	-	-	0	-	0.	-	0.0
N	N	S	N	1	0.52	-	0.	1	100.	-	0.	1	100.	-	0.	1	100	1	100	-	0.	-	0.	1	100	-	1	100.	-	0.	-	0.0
N	S	N	S	2	1.04	2	100.	-	0.	2	100.	-	0.	2	100.	-	0	2	100	-	0.	-	0.	2	100	-	1	50.	-	0.	-	0.0
N	R	S	N	1	0.52	-	0.	1	100.	1	100.	-	0	1	100.	-	0	1	100	-	0.	1	100.	-	0.	-	-	0.	-	0.	-	0.0
N	R	S	R	1	0.52	1	100.	-	0.	1	100.	-	0.	1	100,	-	0.	-	0.	1	100.	-	0.	1	100	-	-	0.	-	0.	-	0.0
S	R	S	R	1	0.52	1	100.	-	0.	1	100.	-	0.	1	100,	-	0.	-	0.	1	100.	-	0.	1	100	-	-	0.	-	0.	-	0.0

HA: Hemagglutinasyon (N): Negatif HA (S): Mannoz Sensitiv HA (R): Mannoz Rezistan HA

SAT: Salt Agregasyon Testi 1.5 ≤ SAT değeri (+) 2≥ SAT değeri (-)

SR: Serum Rezistan Testi 0.70 ≤ Serum sensitiv 0.70> Serum rezistan

n: Suş miktarı (+): pozitif (-): negatif

görülmektedir.MRHA$^+$ pozitif E.coli'lerin % 59.2 si(37suş),civcivler için patojen bulundu.İnsan eritrositleri ile MRHA veren E.coli suşlarının,sığır kobay ve tavşan eritrositleri ile MRHA verenlerden daha yüksek oranda(%76.7)patojenik olduğu tespit edildi(tablo-5).

Tablo 5 MRHA$^+$'lu 62 E.coli suşunun bazı özellikleri

suş miktarı	MRHA	Civciv Patojenite n	%	Tavşan Ent.pat.^{x} n	%	İnfant Fare Ent.toksijenite^{xx} n	%
43	insan	33	76.7	6	13.9	1	2.3
10	sığır	5	50.0	2	20.0	-	0.0
7	kobay	3	42.8	-	0.0	-	0.0
23	tavşan	13	56.5	7	30.4	2	8.7

x :Enteropatojenite,xx :Enterotoksijenite

MRHA$^+$ pozitif ve civciv patojenik 37 E.coli suşunun % 89.1'i MRHA$^+$ reaksiyonunu tek başına insan eritrositleri ile veya diğer eritrositlerle oluşturduğu saptandı.Tablo -6'da bu suşların SAT,SR,adhezyon ve enteropatojenite özellikleri görülmektedir.

Tablo 6 MRHA$^+$ve Civciv Patojen 37E.coli suşunun bazı özellikleri

	MRHA İs	Sğ	Kb	Tş	SAT 1.5	SR 0.70	ADHEZYON Bb	Bt	Tt	Tavşan Lüp Ent.pat.
Pozitif	33	5	3	11	25	37	27	28	32	4
Negatif	4	32	34	26	12	0	10	9	5	33

Çalışmada incelenen 192 E.coli suşunun MRHA,MSHA ve HA(-) özelliklerinin civciv patojenite ile ilgisi incelendiğinde, MR,MS ve HA(-) hemagglutininli suşların sırasıyla,% 59.2,% 55.4 ve % 39.3 oranında patojen oldukları tespit edildi(tablo 7)

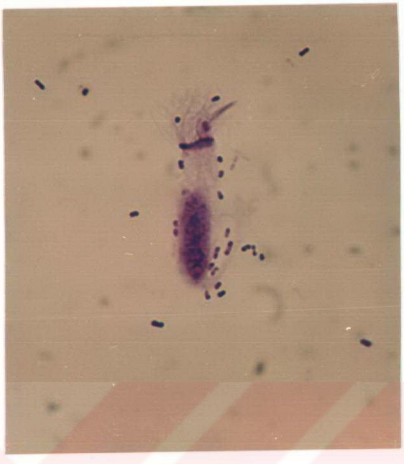
HA formülleri ile civciv patojenite özellikleri karşılaştırıldığında-düşük orandaki HA formülleri dışında - RNSS,RNNN, RNNS ve NNSS formüllerinin sırasıyla,%78.9,%72.7,%71.4 ve % 65.7 oranında patojen oldukları belirlenmiştir(tablo-4).

Tablo-7 E.coli'lerin MS,MR ve HA(-) hemagglutininleri bulundurma özelliklerinin civciv patojenite ile ilişkisi

HA tipi	suş n	Civciv Patojenite Testi n (+) %		n (-) %	
MS^{+}/MR^{-}	74	41	55.4	33	45.6
MS^{-}_{+}/MR^{+}	62	37	59.2	25	40.8
HA(-)	56	22	39.3	34	60.7

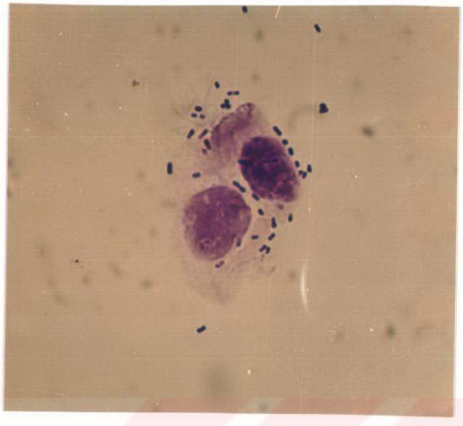
Adhezyon Testleri: Üç farklı epitel hücrelerinin kullanıldığı bakteriyel adhezyon testlerinde; tavuk trachea epitel hücrelerine 127 (%66,1), buzağı trachea epitel hücrelerine 107 (%55,7) ve buzağı barsak epitel hücrelerine 97 (%50,5) E.coli suşunun adhezyonu başardığı gözlendi. Çalışmada incelenen E.coli suşlarının adhezyon özellikleri tablo-3'te, HA formüllerine göre adhezyon yetenekleri ise tablo-4'te gösterilmiştir. Adheziv karakterdeki E.coli'lerin tek tek incelendiklerinde, epitel hücrelerine tutunan bakteri miktarlarının farklı oldukları gözlendi. Adheziv suşların adhezyon indeksleri ve adhezyon oranları aşağıdaki gibi bulundu: Buzağı barsak epitel hücreleri için Aİ:8, AO:65, buzağı trachea epitel hücreleri için Aİ:10, AO:75. Buna karşılık, adheziv karakterde olmayan suşlarda her üç tip epitel hücreleri için Aİ $\leq$ 2, AO $\leq$ 10 olarak tespit edildi (Resim-2,3,4 ve 5).

Adhezyonu başarma özelliği, civciv patojenite ile karşılaştırıldığında, buzağı barsak, buzağı trachea ve tavuk trachea epitel hücrelerinde adhezyon pozitif E.coli suşları sırasıyla, % 57,7 (97 suşun 56'sı), % 54,2 (107 suşun 58'i) ve % 64,6 (127 suşun 82'si) oranında patojen olarak bulundu. Adheziv olmayan suşlarda ise aynı sıra ile, % 51,5 (49^{+}/95 suşta) % 55,3 (47^{+}/85 suşta) ve % 35,2 oranında patojen özellik tespit edildi.

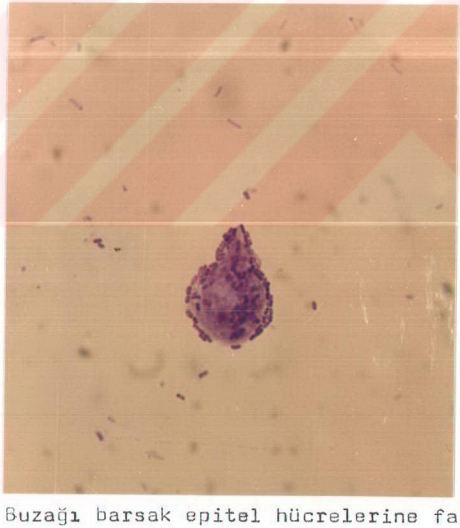


Resim-2 Buzağı trachea epitel hücresine adhere olmuş E.coli'ler(Adhezyon pozitif).

Resim-3 Tavuk trachea epitel hücrelerine adhezyonu başaramayan bir E.coli suşunun 1 ve 2 bakteri tutunmuş görüntüsü



Resim-4 Adhezyon pozitif kabul edilen bir E.coli suşunun ikili buzağı trachea epitel hücrelerine tutunması.



Resim-5 Buzağı barsak epitel hücrelerine fazla miktarda tutunmuş E.coli'ler.

Salt Aggregasyon Testi:Çalışmada incelenen E.coli'lerin SAT değerleri tablo-3'te gösterilmiştir.Bakterinin hücre yüzeyi hidrofobik özelliğini gösteren bu testte,SAT değeri ≤ 0,05-1,5 M olanlar hidrofobik,≥ 2,0 M olanlar hidrofilik olarak değerlendirildi.En yüksek amonyum sülfat süspansiyonu olarak hazırlanan 3 M'de de kümeleşme göstermeyen E.coli'ler "N"(negatif) SAT değeri olarak gösterildi.E.coli suşlarının % 39,6'sı(76 suş) hidrofobik, % 60,4'ü(116 suş) hidrofilik karakterde bulundu.

HA formüllerine göre E.coli'lerin hidrofobik özellikleri tablo-4'te sunulmuştur.Mannoz sensitiv veya mannoz rezistan hemagglutininlere sahip E.coli suşlarının(özellikle SNSS,RNSS),hemagglutinin tespit edilemeyen suşlardan(NNNN) daha yüksek oranlarda hidrofobik karakterde oldukları saptanmıştır.

Hidrofobik karakterdeki E.coli'lerin buzağı barsak,buzağı trachea ve tavuk trachea epitel hücrelerine adhezyonları sırasıyla,%67,9, %73,6 ve %85,5 oranlarında bulunmuştur.

Serum Rezistan Testi:Serumlu ve serumsuz ortamda üretilen E.coli suşlarının türbiditelerinin karşılaştırılmalarıyla yapılan bu testte,gözle değerlendirmede "serum sensitiv" özellikte bulunan E.coli suşlarının spektrofotometre ile değerlendirmede 0,70 veya daha düşük değerde oldukları saptandı.Bu değerden yüksek olanlar,gözle ayırılamadığından "serum rezistan" olarak ifade edildi. Serum rezistan (>0,70-1,75) değerleri sığır ve tavuk serumu için "r",serum sensitiv (≤0,10-0,70) değerler ise aynı serumlar için "s" olarak gösterildi.

Sığır serumu ile 26 suş (%13,5),tavuk serumu ile 2 suş (% 1,04) serum sensitiv karakterde bulundu.Bu nedenle,tablo-3'te sadece sığır serumu ile alınan bulgular gösterildi.Civcivler için patojen bulunan 105 E.coli suşunun % 7,6'sı,apatojen bulunan 87 E.coli suşunun % 20,7'si sığır serumuna sensitiv bulunurken,tavuk serumuna sensitiv karakterdeki 2 E.coli suşunun 2'si de apatojenikdi.

Kolisin Aktivitesi:Toplam 12 E.coli suşu kolisinojenik karakterde bulundu.Bunların 8'i dışkı orijinli iken,4'ü septisemi orijinli E.coli suşlarıydı.Kolisin sentezleyen bu suşların bazı özellikleri tablo-8'de açıklanmıştır.

Tablo-8 Kolisinojenik 12 E.coli suşunun bazı özellikleri

suş no	HA formülü	SAT	SR^{x}	Adhezyon Bb	Bt	Tt	Civc. Pat.	Tavşan Ent.pat.	İnfantil Fare Ent.toksijenite
39	NNNS	N	+	-	-	-	4/5	+	+
55	SRSS	1.5	+	+	+	+	1/5	-	-
93	NNNN	N	+	+	+	+	4/5	-	+
99	NNSS	2	+	+	+	+	2/5	-	-
131	SRSS	1.5	-	+	+	+	1/5	-	-
152	NNNN	N	+	+	+	+	3/5	+	-
180	NNNS	N	+	-	-	+	4/5	+	+
186	NNSS	2	+	+	+	+	3/5	-	-
H-15	RNSS	1.5	+	+	+	+	2/5	-	-
H-19	RNSS	0.5	+	+	+	+	4/5	-	-
H-44	RNSS	0.5	+	+	+	+	4/5	-	-
H-51	RNSS	1.5	+	+	+	+	2/5	-	-

SR^{x} sığır serumu ile alınan sonuçlar.

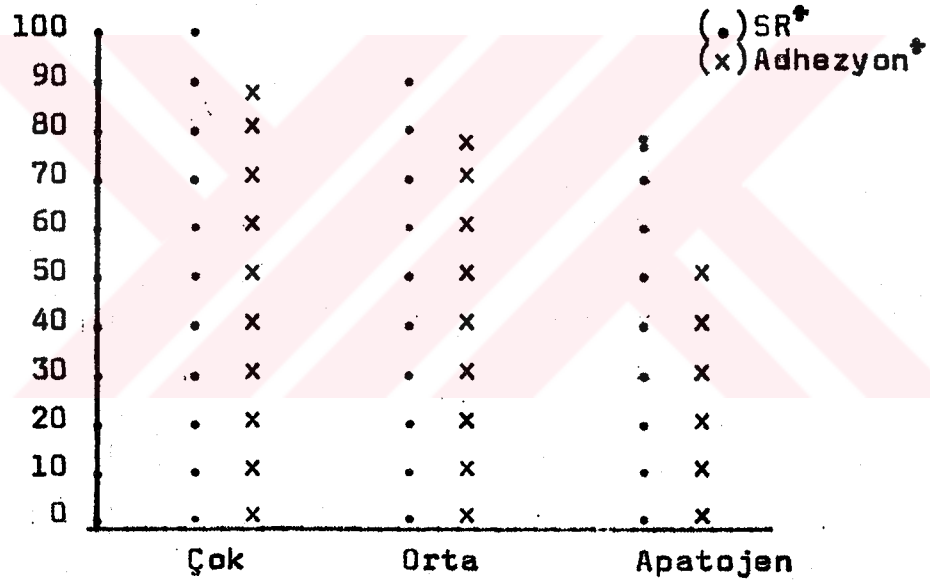
Civciv Patojenite Testleri: Dışkı orijinli E.coli suşlarının %54'ü(101suş),septisemi orijinli suşların tamamı(4suş),1 günlük civcivler için patojenik bulunmuştur.İki ayrıcalıkla(48 no'lu suş 6 civcivde,177 no'lu suş 4 civcivde)tüm suşlar 5'er civcivde,test edildiler.Beşte beş(5/5) oranında civciv öldüren suşa rastlanılmadı.Patojenite derecelerine göre suşların %7.7'si(15suş)çok patojen %46.8'i(90suş)orta patojen ve %45.5'i apatojen grupta bulundular. Civciv patojenite özelliğinin,HA formülleri ile ilişkileri tablo-4'te,adhezyonla ilişkileri tablo-9'da sunulmuştur.Patojen suşlar,tavuk trachea epitel hücrelerine %78.1,buzağı trachea epitel hücrelerine %55.2 ve buzağı barsak epitellerine %54.3 oranında adheziv özellikte bulundular.

Tavuk eritrositleri ile MSHA^{+} veren E.coli'lerin %60.8'i(56suş) patojenik karakterde bulunurken,bu oran HA oluşturmayan suşlarda %49(49suş) olarak tespit edilmiştir.MRHA^{+}'lu patojenik suşların tavuk trachea epitellerine adhezyon oranı %86.5 iken,insan eritrositleri ile MRHA veren patojen suşların(33suş) %96.9 (32suş)oranında adheziv oldukları anlaşılmıştır(Tablo-6).

E.coli suşlarının patojenite derecelerine göre,sığır serumuna rezistan ve tavuk trachea epitellerine adhezyon yetenekleri grafik-1'de görüldüğü gibi,çok patojen grupta,diğer iki gruptan daha yüksek oranlarda bulunmuştur.

Tablo-9:Civciv patojenite ve adhezyon özellikleri

Patojenite		ADHEZYON											
		Buzağı barsak				Buzağı trachea				Tavuk trachea			
(+)	(-)	+		-		+		-		+		-	
n	n	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
105	-	57	54.3	48	45.7	58	55.2	47	44.8	82	78.1	23	21.9
-	87	40	45.9	47	54.1	49	56.3	38	43.7	45	51.8	42	48.2



Grafik-1: Civciv patojenite,serum rezistan(sığır serumuna) ve adhezyon özellikleri arasındaki ilişkiler.SR ve adhezyon oranları,çok patojen grupta %100,%86.6,orta patojen grupta %90.1,%76.6 ve apatojen grupta %81.6, %50.6 oldukları görülmektedir.Çok-çok patojen gruptaki 15 suşu,Orta-orta patojen gruptaki 90 suşu,Apatojen-apatojen gruptaki 87 suşu temsil etmektedir.

Enteropatojenite ve Enterotoksijenite Testleri: Tavşan ince barsak lup testi ile yapılan enteropatojenite denemeleri sonucunda, dışkı orijinli 188 E.coli suşundan 56'sının(%30.8) enteropatojenik karakterde olduğu görüldü. Septisemi orijinli suşlar ise enteropatojenik bulunmadı.

İnfantil farelerde yapılan enterotoksijenite testlerinde ise dışkı orijinli E.coli'lerin 21'inde(% 11,2) enteroksijenik değerler elde edildi. Septisemi orijinli suşlar, bu testte de negatif bulundu.

Enteropatojenik ve enterotoksijenik E.coli suşlarının HA formüllerine göre; SAT, SR, adhezyon ve civciv patojenite özellikleri tablo-10'da gösterilmiştir. İnfantil fare testi ile enterotoksijenik değerde bulunan bir suş(149 no'lu), tavşan lup testi ile negatif bulunmuştur. Enteropatojenik 56 E.coli suşu, 9 farklı HA formülü oluşturmuştur. Bunlardan 29'unun(%51,6) "NNNN" formülünde olduğu ve bu formüldeki suşların 14'ünün civcivler için patojen, 10'unun ise enteropatojenik karakterde oldukları görülmektedir. "NNSS" HA formülündeki 7 suştan 6'sının civcivler için patojenik ve 2'sinin enterotoksijenik olduğu, buna karşılık "RNNN" formülündeki suşların patojenik ve enterotoksijenik karakterde olmadıkları tespit edilmiştir.

Tablo-10 Enteropatojenik E.coli'lerin HA formüllerine göre; SAT, SR(sığır serumu ile), adhezyon, civciv patojenite ve enterotoksijenite ile ilişkileri

HA formülü	suş n	suş %	SAT[x] ≥1,5	SR[x] ≥0,70	Adhezyon[x] Bb	Bt	Tt	Civciv Pat.Testi	Entero-toksijenite
NNNN	29	51,6	0	29	3	8	11	14	10
NNSS	7	12,5	3	7	5	5	6	6	2
NNNS	7	12.5	0	7	1	2	1	3	2
SNSS	4	7,2	3	3	3	2	3	1	2
RNNN	3	5,4	1	2	1	1	1	0	0
RNSS	2	3,6	2	1	2	1	2	1	1
RNSN	1	1,8	0	1	1	0	1	1	0
SRSS	2	3,6	2	1	2	2	2	1	2
SNNN	1	1,8	0	1	1	1	1	0	1

(x): Belirtilen testlerin altındaki rakamlar, pozitif sonuçlardır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada,klinik olarak sağlıklı görünümdeki hindilerin dışkı örneklerinden izole edilen 188 E.coli ile septisemili hindilerin iç organlarından izole edilen 4 E.coli olmak üzere toplam 192 E.coli suşunun hemagglutinasyon,adhezyon ve hidrofobik özellikleri,kolisin ve hemolizin aktiviteleri,normal serumun bakterisidal etkilerine duyarlılıkları ile patojenik,enteropatojenik ve enterotoksijenik karakterleri incelendi.

Biyokimyasal özellikleri bakımından E.coli'lerin genelde bir homojenlik gösterdikleri,bir çok araştırıcı tarafından bildirilmiştir(10,15,18,20,35,42,141).Bu çalışmada bulunan biyokimyasal aktivite sonuçları diğer araştırıcıların bulguları ile uyumluluk göstermektedir.

E.coli suşlarının CFA,K99,K88,987P,F41 ve tip-1 gibi fimbrial adhezinlere sahip oldukları çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur(33,49,71,80,92,109,139).Kanatlılarda çeşitli enfeksiyonlara neden olan E.coli'lerin adhezyon yeteneklerinin patojenite için önemli olduğu bir çok araştırıcı tarafından kabul edilmiştir(12,13,35,39,40,111,116,154).Ancak bu faktörlerin neler olduğu henüz kesin olarak tespit edilememiştir(12,40,44).E.coli suşlarının bir çoğunda yaygın olarak bulunan tip-1 fimbria'ların, kobay ve diğer eritrositlerle MSHA oluşturmasına(139,142)rağmen, spesifik fimbrialarının(K99,K88,CFA gibi) farklı eritrositlerle,değişik hemagglutinasyonlara neden olmalarından hareketle(45,54,92) bir çok araştırıcı(37,40,43,56,57,67,70,87,88,155,159),izole ettikleri E.coli suşlarının hemagglutinasyon özelliklerinin,patojenik ve enterotoksijenik karakterleriyle ilgilerini incelemişlerdir.

Agüero ve ark.(4), insanların intestinal ve ekstraintestinal kaynaklı E.coli suşlarının,mannoz rezistan hemagglutinasyon özellikleri ve invazyon yetenekleri arasındaki ilişkileri incelediklerı çalışmalarında,intestinal suşların % 7,ekstraintestinal orijinli suşların % 58 oranında MRHA oluşturduğunu bildirmişlerdir.Gonzales ve Blanco (67),MRHA özelliğinin ishalli domuzlardan izole edilen E.coli'lerde % 43,6,sağlıklılardan izole edilen

E.coli'lerde ise % 17,2 oranında olduğunu tespit etmişlerdir. Hagberg ve ark.(75),sağlıklı çocukların dışkılarından izole edilen 120 E.coli suşunun insan eritrositleriyle %16 oranında MRHA ve %31 oranında MSHA verirken,kobay eritrositleri ile % 2 MRHA ve % 64 MSHA oluşturduğunu,bu suşların %33'ünün ise her iki eritrositle de HA vermediğini bildirmişlerdir. Araştırıcılar,piyelonefritisli insanların idrar örneklerinden izole ettikleri 111 E.coli suşunun insan eritrositleri ile MRHA ve MSHA oranları sırasıyla %77 ve %5,kobay eritrositleri ile MRHA ve MSHA oranları ise %2 ve %86 olarak bulunduğunu açıklamışlardır.Aynı araştırıcılar,insan eritrositleri ile MRHA oluşturan E.coli suşlarının,fekal floradan üriner sistemi enfekte eden suşların seçilmesinde kullanılanılabileceğini savunmuşlardır.Fairbrother ve ark.(55),ishalli domuzlardan,"F165" adını verdikleri yeni bir fimbrial antijene sahip E.coli suşu izole ettiklerini,bu suşun mannoz rezistan hemagglutininlere sahip olduğunu ve enterotoksijenik olmaması nedeniyle,ekstraintestinal enfeksiyon etkeni olabileceğini bildirmektedirler.Dho ve Lafont(40),hindi ve tavuklardan izole edilen 59 E.coli suşunun insan,sığır,tavuk ve kobay eritrositleri ile hemagglutinasyon özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, sadece 3 E.coli'nin insan eritrositleriyle MRHA oluşturduğunu,sığır eritrositleri ile HA gözlenemediğini bildirmişlerdir.İnsan,tavuk ve kobay eritrositleri ile MSHA oluşturma oranlarını ise sırasıyla %28,8, %79,5 ve %81 olarak tespit etmişlerdir.Araştırıcılar, HA formüllerine göre ise,%47,3'ünü NNSS, %28,9'unu SNSS,%17'sini NNNN ,%3,4'ünü RNSS, %1,7'sini RNNN ve %1,7'sini NNNS olarak sınıflandırmışlardır.

Bu çalışmada incelen 192 E.coli suşunun % 38,5'i MSHA, % 32,3'ü MRHA verirken, % 29,2'sinin hiç bir eritrositle hemagglutinasyon oluşturmadığı tespit edilmiştir.En fazla MRHA oluşumu insan eritrositleri ile(%22,4),en fazla MSHA oluşumu ise kobay(%54,2) ve tavuk(%47,9) eritrositleriyle gözlenmiştir(Tablo-2).Çalışmada E.coli suşlarının %18,2'si NNSS,%10,4'ü SNSS, %29,2'si NNNN, %9,9'u RNSS, %5,7'si RNNN, %7,3'ü NNNS ve geriye kalan %19,3'ü ise 17 farklı HA formülü oluşturduğu tespit edilmiştir(Tablo-4).Dho ve Lafont(40)'un bildirdikleri

HA formülleri bu çalışmada da yüksek oranlarda bulunmuştur. Ancak bu araştırıcılardan daha yüksek oranda MRHA oluşumu ve NNNN formülünün tespit edilmesi,bu araştırmada sağlıklı hayvanların dışkı orijinli suşlarının kullanılması ve farklı yetiştirme şartlarındaki hindilerden izole edilmiş olmaları ile açıklanabilir.Yine bu çalışmada 23 farklı HA formülünün bulunması daha fazla suş ile çalışılmasına ve bu E.coli suşlarının farklı yetiştirme şartlarındaki hayvanlardan izole edilmelerine bağlanabilir.

MSHA testlerinde,insan eritrositleri ile 1 suş,kobay eritrositleri ile 3 suş ve sığır eritrositleri ile 2 suş,farklı bireylerden alınan eritrositlerle değişik zamanlarda tekrarlanan HA testlerinde farklı sonuçlar verdi.Bu durum bazı araştırıcılar(40,57) tarafından faz variyasyonuna bağlanmaktadır.

MRHA testlerinde,37^{o}C de üretilen E.coli'lerin aynı şekilde tekrarlanabilirlik göstermelerine karşılık,oda ısısında üretilen kültürlerin MRHA oluşturmamaları,mannoz rezistan hemagglutininlerin sentezinin en iyi 37^{o}C de olduğunu bildiren araştırıcıları destekler niteliktedir(40,46,51,57,80,122).

Çalışmada kullanılan tüm eritrositler ile E.coli suşlarının oluşturdukları MSHA,MRHA ve HA^{-} özelliklerine göre, civciv patojenite yetenekleri incelendiğinde sırasıyla,%55,4, %59,2 ve %39,3 oranlarında patojen oldukları tespit edilmiştir (Tablo-7).Buna karşılık,insan eritrositleriyle MRHA veren suşların,sığır,kobay ve tavşan eritrositleri ile MRHA veren suşlardan daha yüksek oranda patojenik olduğu(%76,7) anlaşılmıştır(Tablo-5).Enteropatojenite ve enterotoksijenite oranları ise,tavşan eritrositleri ile MRHA verenlerde, diğer eritrositlerle MRHA verenlerden daha yüksek bulunmuştur.İnsan eritrositleri ile MRHA^{+} E.coli'lerin veya insan eritrositleriyle MRHA^{+},kobay eritrositleriyle MSHA^{+} E.coli'lerin yüksek oranda patojenik bulunmaları,bu tip hemagglutinasyonların,fekal floradan ekstraintestinal sistemleri enfekte eden E.coli'lerin seçilmesinde kullanılabilineceğini bildiren araştırıcıların bulgularını destekler niteliktedir(4,51,55,75).

Harper ve ark.(76),klinik mastitis etkeni bir E.coli suşu ile ishalli bir bebekten izole edilen sığır meməsi için avirülent ve normal sığır serumuna sensitiv bir E.coli suşunun MRHA ve adhezyon özelliklerini inceledikleri çalışmalarında,eritrositleri hemagglutine etme ve epitel hücrelerine adhezyon oluşturma özelliklerinin D-mannoz ile önlendiğini ve her iki özellikten de fimbriaların sorumlu olduğunu bildirmişlerdir.Hagberg ve ark.(75),insan eritrositleri ile MRHA,insanla MRHA ve kobay eritrositleriyle MRHA veya MSHA veren E.coli suşlarının,bu eritrositlerle MSHA veya HA^- verenlerden daha güçlü ve daha yüksek oranda adhere olduklarını tespit etmişlerdir. Scaletsky ve ark.(142),HeLa hücrelerine lokalize veya diffuz adhezyon özelliğinin, CFA/I ve CFA/II kolonizasyon faktör antijenleri ile ilgili olmadığını,ancak kobay eritrositleriyle MSHA veren tip-1 fimbrialı suşların,hücrelerin her tarafına adhere olduklarını bildirmektedirler.Dho ve Lafont(40) ise,insan eritrositleri ile MRHA veren 3 E.coli suşunun tavuk trachea epitellerine adhere olamadıklarını,NNSS ve SNSS formülünde HA oluşturan E.coli'lerin sırasıyla % 32,1 ve % 70 oranında adheziv olduklarını bildirmektedirler.Araştırıcılar, fazla adheziv E.coli suşlarının % 76'sının civcivler için virülent olmalarının yanısıra,avirülent suşlarda da % 24 oranında adhezyona rastladıklarını rapor etmişlerdir.Isaacson ve ark.(81),K88,K99,987P ve tip -1 fimbria'lı E.coli suşlarının adhezyon özelliklerini incelediklerı çalışmalarında,domuz ince barsaklarından hazırlanan epitel hücrelerine değişik derecelerde adhezyon oluşturduklarını, aynı E.coli suşlarının fimbriasız variyantlarının adhezyonu başaramadıklarını ve ayrıca barsak epitel hücrelerinde farklı fimbrial antijenler için farklı reseptörler bulunduğunu açıklamışlardır.

Bu çalışmada,tavuk trachea epitel hücrelerine adhezyon oranının,buzağı trachea ve barsak epitel hücrelerine adhezyon oranlarından daha yüksek bulunması,hücrelerdeki reseptör farklılıkları ile açıklanabilir(21,81).

Tip-1 fimbria,insan,domuz ve sığırlardan izole edilen E.coli'lerde önemli kabul edilmemesine rağmen(21,45,92,118,139), kanatlılarda çeşitli enfeksiyonlara sebep olan E.coli suşlarının

mukozal epitellere adhere olmalarında önemli rol oynadığı bazı araştırıcılar(13,14,56,111,116) tarafından bildirilmiştir. Kobay eritrositleri ile tip-1 fimbrialı E.coli'lerin MSHA verdiğinden(45,54,57,92,142)hareketle,çalışmada incelenen E.coli'lerin kobay eritrositleriyle MSHA,MRHA ve HA^- verilerine göre adhezyon ve civciv patojenite ilişkileri incelenmiştir(Tablo-11). Tavuk trachea epitel hücrelerine en yüksek adhezyon oranları, MSHA ve diğer eritrositlerle MRHA veren E.coli suşlarından alınmıştır(% 91,0).Aynı suşların civcivler için % 73,5 oranında patojen olması,kanatlılarda patojenik olan E.coli'lerde,tip-1 fimbrianın önemli olduğunu savunan araştırıcıları destekler niteliktedir.

Tablo-11 Kobay eritrositleriyle HA oluşturma özelliğinin adhezyon ve civciv patojenite ile ilgisi

Kb/Diğer. eritrosit le HA	suş		ADHEZYON* Bb		Bt		Tt		Civciv patojenite*	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
HA^-/HA^-	56	29,2	12	21.5	18	32.1	20	35,7	22	39,4
HA^-/MS-MR	25	13.0	15	60.0	14	56.0	16	64.0	12	48.0
$MRHA^+/MR^{+-}$	7	3,6	6	85,7	6	85,7	5	71.1	4	57,1
$MSHA^+/MRHA^+$	33	17,1	24	72,7	26	78,7	30	91,0	25	73,5
$MSHA^+/MS^{+-}$	71	37,1	40	56,3	43	60,8	56	76,0	42	59,2

Kb:kobay,Diğer:insan,sığır,tavuk ve tavşan eritrositleri ile oluşturulan,HA^-:hemagglutinasyon negatif,MS-MR:mannoz sensitiv veya mannoz rezistan hemagglutinasyon,$MR^{+/-}$:pozitif veya negatif MRHA.Bb:Buzağı barsak,Bt:Buzağı trachea,Tt:Tavuk trachea epitel hücreleri.Oranlar,suş miktarlarına göre yapılmıştır.

E.coli suşlarının,HA formüllerine göre oluşturdukları en yüksek adhezyon değerleri,RNSS,NNSS ve SNSS formüllerinde HA verenlerden alınmıştır(Tablo-4).NNSS ve SNSS formülleri Dho ve Lafont(40)'un bulgularına yakın değerlerde olmasına karşılık, RNSS formülündeki suşların %100 oranında tavuk trachea epitel hücrelerine adheziv bulunmaları Hagberg ve ark.(75)'nın bulguları ile uyum göstermektedir.NNNN tipinde HA formülü oluşturan E.coli'lerin düşük oranlarda da olsa adheziv olmaları,adhezyonda fimbrial hemagglutininlerden başka yüzey yapılarının da rol oynadığını bildiren(21,31,121) ve bazı E.coli suşlarında hemagglutinasyon yapmayan fimbrialarının bulunduğunu açıklayan(37,46, 158) araştırıcıların bulguları ile açıklanabilir.

Bazı araştırıcılar(57,58,79,120,159) E.coli'lerin,hücre yüzeyi hidrofobibik özellikleri ile hemagglutinasyon ve adhezyon karakterleri arasında yüksek oranda ilişki bulunduğunu bildirmektedirler.Ayrıca E.coli'lerin hidrofobik özelliklerinin, bakterinin somatik ve kapsül antijenleriyle ve enterotoksin sentezlemeleri ile ilgili olmadığı ortaya konmuştur(57).Son yıllarda geliştirilen SAT testi yardımıyla bakterilerin,spesifik bir fimbrial antijenden ziyade,fimbrialı olup-olmadığı hakkında fikir verebileceği savunulmaktadır(57,79,158).Faris(57),K88,K99 ve CFA gibi özgül fimbrial antijenleri bulunduran 73 E.coli suşun- % 89'unun hidrofobik jellere ve hidrofobik octyl sepharose'a adsorbe olduklarını,bu suşların SAT testi ile de aynı değerlerde hidrofobik bulunduklarını bildirmektedir.Wadström ve ark.(158), 6 farklı eritrositle gerçekleştirilen hemagglutinasyon denemelerinde HA^- negatif değerler veren 157 enteropatojenik E.coli suşunun fimbrialı olduklarını elektromikroskopi ile saptamışlardır. Araştırıcılar, bu suşların SAT değerlerinin 0,1 ve 1,6 M arasında bulunduğunu bildirmişlerdir.Cakır ve ark.(37) ise,Üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen 100 E.coli suşu ile yaptıkları çalışmalarında;MRHA,Candida aglutinasyon ve SAT testine dayanarak fimbria tiplendirmesi yapmışlar,hemagglutinasyon ve Candida aglutinasyon testleri ile negatif bulunan E.coli'lerin % 100'ünün SAT testi ile de negatif bulunduklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada,76 E.coli suşunun SAT değerleri 1,5 M veya daha düşük olarak bulunmuştur.Hidrofobik karakterde bulunan bu E.coli suşlarının; buzağı barsak,buzağı trachea ve tavuk trachea epitel hücrelerine sırasıyla % 67,9,%73,6 ve % 85,5 oranlarında adheziv bulunmaları, her iki özelliğin birbiriyle ilişkili olmasıyla açıklanabilir.Ayrıca taolo-4'te de görüldüğü gibi,MSHA veya MRHA oluşturan suşların,hiç bir eritrositle HA^- vermeyen(NNNN) E.coli suşlarından daha yüksek oranlarda SAT pozitif(hidrofobik) ve adheziv karakterlerde bulunmaları;HA,adhezyon ve hidrofobik özelliklerin birbirleriyle ilgili olduğunu göstermektedir.Bu bulgulara dayanarak,hemagglutininlere sahip olmayan ve SAT değerleri yüksek(hidrofilik)olan E.coli'lerin,fimbriasız olabileceğine karar verilebilir.

İnsanlarda septisemik enfeksiyonlara neden olan E.coli'lerin,serum rezistan özelliği ve kapsül antijenleri arasında ilişkiler olduğu(1,26,36,59,130),ve serum rezistan yeteneğinin bakterinin invazyon kabiliyetini arttırdığı bildirilmektedir(59, 117).

Sanchez-Carlo ve ark.(140),mastitisli ineklerden izole edilen E.coli'lerde invazyon yeteneği,enterotoksin ve spesifik fimbria varlığı ile mastitis oluşturma arasında bir ilişki bulamadıklarını,buna karşılık serum rezistan özelliğinin mastitis etkeni E.coli'leri ayırmada kullanılabileceğini bildirmektedirler.Rainard (132),sağlam bir memenin E.coli enfeksiyonlarına direncinde immunglobulinlerden ziyade laktoferrin ve transferrin'in önemli rol oynadığını savunmaktadır.Fietta ve ark.(59),serum rezistan özelliğinin E.coli'lerin,kapsül antijenleri ve diğer yüzey yapılarından başka "Bhs genleri" olarak tanımlanan plazmidlerin ve daha bir çok faktörlerin etkisinde olduğunu bildirmektedirler.

Bu çalışmada çok patojen suşlarda %100,orta patojen suşlarda %90,1 oranında serum rezistan özelliğinin bulunması(Grafik -1),E.coli'lerin serum rezistan yeteneklerinin ,invazyon yeteneklerini,dolayısıyla patojeniteyi arttırmasıyla açıklanabilir.Çok az oran(%7.6)da da olsa,serum sensitiv karakterli E.coli suşlarının civcivler için patojenik bulunması ise,virülensde başka özelliklerin de rol oynaması(117,147)'na bağlanabilir.

İnsan ve hayvanların sağlıklı ve hastalıklı materyallerinden izole edilen E.coli'lerin kolisinojenitesi üzerinde çalışan bazı araştırıcılar(4,43,129,131),kolisin aktivitesinin,bulunduğu E.coli suşlarının patojenitesine yardım ettiğini bildirmektedirler.Agüero ve ark.(4),Üriner sistem enfeksiyonlarından izole edi- E.coli K1 populasyonundaki suşlarda MRHA ve kolisin aktivitesinin, aynı hastaların barsaklarından izole edilen aynı populasyondaki suşlardan daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.Djonne(43),colisin-V plazmidini bulunduran E.coli suşlarının,bulundurmayanlardan daha patojen olduklarını bildirmiştir.Pohl ve ark.(129),sığırların ve domuzların patolojik ve normal materyallerinden izole ettikleri E.coli suşlarından enterotoksijenik olanların,

daha fazla kolisinojenik olduklarını rapor etmişlerdir.Jakovina (86),sağlıklı kanatlıların barsaklarından % 89,enteritisli kanatlıların barsaklarından ise % 80'e yakın oranda kolisinojenik E.coli izole ettiğini bildirmiştir.Quackenbush ve Falkow(131),tek başına kolisin aktivitesinin virülensi göstermemekle birlikte, makrofajlara etki göstererek,bakterinin patojenitesine katkıda bulunabileceğini savunmaktadırlar.Arda ve ark.(10),septisemili piliçlerden kolisin sentezleyen E.coli izole edemediklerini,dolayısıyla kolisin aktivitesinin patojenite ile ilgisi bulunmadığını savunmaktadırlar.Diker ve İstanbulluoğlu(42) sağlıklı kanatlıların dışkılarından % 14 oranında kolisinojenik E.coli izole ettiklerini bildirmektedirler.Heller ve Drabkin(78) ise,hastalıklı tavuk ve hindilerden izole ettikleri E.coli'lerde sırasıyla %61,8 ve %61,7 oranında kolisin aktivitesi tespit ettiklerini, sağlıklı olanlarda bu oranların yarısı kadar kolisin aktivitesi bulunduğunu bildirmişlerdir.İzgür ve İstanbulluoğlu(85),sağlıklı koyunların dışkılarından % 6 oranında kolisin sentezleyen E.coli izole edildiğini açıklamışlardır.Ayhan(18),sığır orijinli E.coli'lerde % 5,1,tavuk orijinlilerde % 12,5 ve hindi orijinli suşlarda % 100 oranında kolisin aktivitesi bulmuştur.

Bu çalışmada dışkı orijinli 188 E.coli suşunda % 4,2 oranında kolisin aktivitesi tespit edilmiştir.Kolisin aktivitesinin düşük oranda bulunması Diker ve İstanbulluoğlu(42) ile İzgür ve İstanbulluoğlu(85)'nun bulgularıyla uyum göstermektedir.Ayrıca,patojenite için mutlaka gerekli olmadığını savunan araştırıcıları(4,10,131) doğrulamakla birlikte,kolisinojenik bulunan E.coli'lerin hemen tamamının(%83,3)patojenik olmaları(Tablo-8), kolisin aktivitesinin bakterinin patojenitesine yardım ettiğini bildiren araştırıcıların(43,129,131,148,149) görüşünü destekler niteliktedir.

Kanatlı hayvanların sağlıklı ve enfekte materyallerinden izole edilen E.coli'lerin hemoliz oluşturmadıkları bazı araştırıcılar(10,68) tarafından bildirilmiştir.Bu çalışmada da hemolitik E.coli suşuna rastlanmamasıyla bu araştırıcılarla paralellik sağlanmıştır.

Kanatlı orijinli E.coli suşlarının in vivo patojenite denemeleri bir çok araştırıcı(10,13,25,35,39,40,44,77,78,111)tarafından civciv veya piliçlere değişik yollardan verilerek yapılmıştır.

Dho ve Lafont(40),54'ü sağlıklı,6'sı septisemili hindi palazı ve civcivlerden izole ettikleri E.coli suşlarını,bir günlük civcivlere derialtı enjekte ederek denemişler,% 78'inin patojenik olduğunu tespit etmişlerdir.Heller ve Drabkin(78),kanatlıların E.coli enfeksiyonlarından izole ettikleri suşları,10 günlük civcivlere oral yolla verdikleri çalışmalarında,E.coli'lerin % 92'sinin civcivlerde %40'tan %100'e kadar değişen ölümler oluşturduğunu bildirmişlerdir.Rosenberger ve ark.(135),septisemili broylerlerden izole ettikleri E.coli'leri 1 günlük broyler civcivlerine intratracheal yolla vermişler ve 184 suşun %74.3'ünün patojen olduğunu açıklamışlardır.Arda ve ark.(10),septisemili piliçlerden izole ettikleri E.coli suşlarını 28 günlük piliçlere kas içi vererek test etmişler,20 suştan % 75'inin patojen olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada,dışkı orijinli E.coli suşlarının % 54'ünün, septisemi orijinli suşların tamamının patojen bulunması,bu konuda çalışan araştırıcıların(40,78,135) bulgularına yakın değerlerde bulunmuştur.Ayrıca,alınan bu sonuçlar,sağlıklı kanatlıların barsaklarında patojen bakterilerin bulunduğunu ve bu E.coli'lerin özellikle civcivler için enfeksiyon kaynağı olduğunu bildiren araştırıcıları(42,68,78,90) da destekler niteliktedir.

Çalışmalarında E.coli suşlarını,öldürdükleri civciv miktarlarına göre;yüksek patojen,orta patojen ve apatojen olarak guruplandıran Dho ve Lafont(40),59 E.coli suşunun % 42,3'ünü yüksek patojen,%35,5'ini orta patojen ve %22.2'sini apatojen olarak bulmuşlardır.Rosenberger ve ark.(135) ise,1 günlük civcivlerdeki denemelerine göre yüksek patojen,orta patojen ve apatojen E.coli' leri sırasıyla %58,0,%16,3 ve %25,7 oranlarında bulmuşlardır.Bu çalışmada ise aynı sınıflandırmaya göre yüksek patojen grubun çok düşük bulunması(%7.7),incelenen suşların sağlıklı hayvanlardan izole edilmiş olmalarından ve veriliş yollarının farklılığından olabilir(13,116,135).

Termostabil(ST)enterotoksinlerin ortaya konmasında,en yaygın kullanılan test metotları,6 saatlik tavşan ince barsak lup ve infantil fare testleridir.Her iki test,aynı tip ST enterotoksinine benzer şekilde duyarlı olmalarına rağmen,daha ekonomik,daha basit ve özellikle STa enterotoksinine daha duyarlı olması nedeniyle,infantil fare testi daha yaygınlaşmaktadır(24,28,48,64, 96,105,128).

Ellis ve ark.(48),buzağı ve domuzlardan izole edilen enteropatojenik E.coli suşlarından 12'sinin infantil fare testinde pozitif bulunduğunu,negatif bulunan 3 suşun LT tip enterotoksin ürettiğini,kalan suşların ise düşük seviyede enterotoksin üretmelerine rağmen,değerlendirme kriterleri ve besi yerleri farklılığından dolayı negatif bulunduklarını açıklamışlardır.Moon ve ark. (105),infantil farelerin yaşlarının ve test esnasında tutuldukları çevre ısısının ST enterotoksinlerine olan duyarlılıklarını etkilediklerini tespit etmişlerdir.Bazı araştırıcılar(50,64,96,105),enterotoksijenik E.coli'lerden fazla miktarda enterotoksin elde edilmesi ve infantil fare testinde daha yüksek değerlerin alınabilmesi için,TSB veya Brain-Heart Infusion(BHI)buyyondan ziyade Casamino acide-Yeast extract(CA-YE) buyyon(64,96) gibi basit besi yerlerinin kullanılmasını önermektedirler.Pestane de Castro(128)ise, testin duyarlı olmasında kullanılan fare cinslerinin önemli olduğunu savunmaktadır.Panhotra ve ark.(125),tavşan ince barsak lup testi ile enteropatojenik bulunan Salmonella typhimurium suşlarından 11'inin infantil fare testi ile,0.08 ve yukarı değerleri pozitif kabul etmelerine rağmen,enterotoksijenik bulunmadıklarını bildirmişlerdir.Olson ve ark.(120),ishalli köpeklerden %4,1 oranında enterotoksijenik enterobakteri(4 E.coli,2 Klebsiella ssp.) izole ettiklerini,tavşan ince barsak lup testi ile pozitif bulunan bu 6 suşun,infantil fare testi ile sadece 2'sinin pozitif değerlerde olduğunu rapor etmişlerdir.Nalin ve ark.(115),ST ve LT enterotoksinlerini sentezleyen insan orijinli E.coli suşlarının,köpek ince barsak luplarında sıvı birikimine neden olduklarını,infantil farelerde ise konsantre kültür süpernatentleri verilmesine rağmen,toksijenik bulunmadıklarını tespit etmişlerdir.Burges ve ark.(128), ST enterotoksinlerindeki farklılıklardan dolayı(STa,STb,STs),E.coli

suşlarının enteropatojenitelerinin tesbitinde ince barsak lup ve infantil fare testlerinin birlikte yapılmasını önermektedirler. Arda ve ark.(10),septisemili piliçlerden %55 oranında enteropatojenik E.coli izole ettiklerini bildirmektedirler.İstanbulluoğlu(83),septisemili buzağılardan izole edilen E.coli'lerin %64,4'ünün enteropatojenik olduğunu,İzgür ve İstanbulluoğlu(85)ise, sağlıklı koyunların dışkılarından %25 oranında enteropatojenik E.coli izole ettiklerini bildirmektedirler.

Bu çalışmada,tavşan ince barsak lup testi ile E.coli suşlarının %29,2'si enteropatojen,infantil fare testi ile %10,9'u enterotoksijen bulunmuştur.Enterotoksijenik E.coli suşlarının %95,2'sinin enteropatojenik bulunması,enterotoksin sentezleyen suşların tavşan ince barsaklarında da enterotoksijenik etki gösterdikleri,buna karşılık enteropatojenik suşlarını tamamının infantil farelerde pozitif bulunamaması ise her enteropatojenik E.coli suşunun enterotoksin sentezlemediği şeklinde açıklanabilir.Her iki metot arasındaki sonuçların farklı olması,E.coli suşlarının farklı enterotoksinlere sahip olmaları,farklı besi yerlerinde üretilmeleri ve deneme hayvanlarının farklı duyarlılıkta olmalarından kaynaklanabilir.

ÖZET

Bu çalışmada,sağlıklı hindilerin 233 dışkı örneğinden izole edilen 192 E.coli suşunun ,mannoz rezistan hemagglutinasyon(MRHA),mannoz sensitiv hemagglutinasyon(MSHA),farklı epitel hücrelerine in vitro adhezyon,salt aggregasyon(SAT),serum rezistan(SR),kolisin ve hemolizin özellikleri ile patojenik,enterotoksijenik ve enteropatojenik karakterleri incelendi.

İnsan(A grubu),sığır,tavuk,kobay ve tavşan eritrositleriyle $MSHA^+$,$MRHA^+$ ve HA^-(negatif hemagglutinasyon) oluşturan E.coli suşlarının oranları aşağıdaki gibi bulundu:İnsan eritrositleri için % 17.2,%22.4 ve % 60.4,sığır eritrositleri için %2.6 ,%6.3 ve %91.1,tavuk eritrositleri için %47.9,% 0.0 ve %52.1 ,kobay eritrositleri için %54.2,%3.6 ve %42.2 ve tavşan eritrositleri için %16.6,%12.5 ve %78.8 .Ayrıca,HA testleri tüm eritrositlerle genelleştirildiğinde, $MSHA^+$,$MRHA^+$ ve HA^- E.coli suşları,sırasıyla %38.5,%32.3 ve %29.2 olarak bulundu.İnsan,sığır,tavuk ve kobay eritrositleri yapılan HA tiplendirmede,23 farklı HA formülü bulundu.Bu tiplendirmeye göre NNNN,NNSS,SNSS,RNSS,RNNN ve NNNS'li HA formülleri sırasıyla,%29.2,%18.2,%10.4,%9.9,%5.7 ve %7.3 olarak bulundu.

Adhezyon testlerinde,E.coli'lerin buzağı ince barsak,buzağı trachea ve tavuk trachea epitel hücrelerine adhezyon oranları, sırasıyla %50.5,%55.7 ve %66.1 olarak bulundu.

Salt aggregasyon testlerinde,suşların % 39.6'sı hidrofobik olarak bulundu(SAT değerleri $\leq$ 0.05-1.5 M $(NH_4)_2SO_4$).

Serum rezistan testlerinde,normal sığır serumuna serum sensitiv suşların oranı % 13.5 ve normal tavuk serumuna serum sensitiv suşların oranı % 1.04 tü.

Kolisinojenik suşların oranı %6.2 idi.

Suşlar,%5 defibrine koyun kanı ile hazırlanmış TSA agarda hemolitik aktiviteye sahip değildi.

192 E.coli suşunun % 54.2 'si günlük civciv için patojenik özellikte bulundu.

Enteropatojenik ve enterotoksijenik E.coli'ler,tavşan ince barsak lup testi ve infantil fare testi(1-3 günlük) ile sırasıyla %29.2 ve %10.9 olarak bulundu.Diğer yandan,enterotoksijenik E.coli suşlarının %95.2'si enteropatojenikdi.

HA testi sonuçlarına göre,insan eritrositleriyle MRHA$^+$ oluşturan E.coli'ler ile,kobay eritrositleriyle MSHA$^+$/diğer eritrositlerle MRHA$^+$ oluşturan E.coli suşları sırasıyla,%76.7 ve %73.5 oranlarında patojenik bulundular.Beş değişik eritrositle HA oluşturmayan suşların %39.3'ü patojenik olarak bulundu. HA ve adhezyon testleri sonuçlarına göre,en yüksek adhezyon değeri(%91.0)kobay eritrositleriyle MSHA$^+$ ve diğer eritrositlerle MRHA$^+$ oluşturan suşların tavuk trachea epitel hücrelerine adhezyonlarından alındı.Bu iki özelliğin(tavuk trachea epitel hücrelerine adhezyon ve kobay eritrositleriyle MSHA$^+$/diğer eritrositlerle MRHA$^+$) E.coli'lerin hindiler için virulenslerinde önemli bir rol oynadığı kanaatine varıldı.

Enterotoksijenite ve enteropatojenite aktiviteleriyle,HA, adhezyon,SAT,SR ve kolisin özellikleri arasında belirgin bir ilişki bulunamadı.

SUMMARY

"Studies on some pathogenic properties of Escherichia coli strains isolated from faecal flora of turkeys"

In this study, mannose sensitive hemagglutination(MSHA), mannose resistant hemagglutination(MRHA), in vitro adhesion to different epitehelial cells, salt aggregation(SAT), serum resistance(SR), colicine and hemolysine properties and pathogenic, enterotoxigenic, enteropathogenic characteristics of 192 Escherichia coli strains isolated from 233 faecal samples of healthy turkeys were examined.

The rates of E.coli strains forming $MSHA^+$, $MRHA^+$ and HA^- (hemagglutination negative) with human(group A), bovine, chicken, guinea pig and rabbit red blood cells(RBC) were found as follows: 17.2 %, 22.4 % and 60.4 % for human RBC, 2.6 %, 6.3% and 91.1 % for bovine RBC, 47.9 %, 0.0 % and 52.1 % for chicken RBC, 54.2 %, 3.6 % and 42.2 % for guinea pig RBC and 16.6 %, 12.5 % and 78.8 % for rabbit RBC, respectively. In addition, HA tests with RBCs of 5 species, $MSHA^+$, $MRHA^+$ and HA^- E.coli strains were found to be 38.5 %, 32.3 % and 29.2 %, respectively. In the HA typing performed by human, bovine, chicken and guinea pig RBC 23 different HA patterns was found. According to the HA typing, HA patterns with NNNN, NNSS, SNSS, RNSS, RNNN and NNNS were found to be 29.2 %, 18.2 %, 10.4 %, 9.9 %, 5.7 % and 7.3 %, respectively.

In adhesion tests, the adhesion rates of the organisms to calf small intestine , calf trachea and chicken trachea epithelial cells were found to be 50.5 %, 55.7 % and 66.1 %, respectively.

In SAT, 39.6 % of the strains was found to be hidrophobic (SAT values $\leq$ 0.05 - 1.5 M $(NH_4)_2SO_4$).

In SR tests, the rates of serum sensitive isolates to normal bovine sera were 13.5 and 1.04 % to normal chicken sera.

The rate of colicinogenic isolates was 6.2 %.

The isolates did not posses to hemolitic activity on TSA agar supplemented with 5 % defibrinated sheep blood.

Of 192 E.coli strains 54.2 % was found to be pathogenic for day-old chicks.

Enteropathogenic and enterotoxigenic E.coli strains were found 29.2 % and 10.9 % by rabbit ileal loop assay and by infant mouse assay(1-3 day-old),respectively.On the other hand, 95.2 % of the enterotoxigenic isolates was enteropathogenic.

According to HA test results, E.coli strains exhibiting $MRHA^+$ by human RBC and exhibiting $MSHA^+$ by guinea pig RBC and $MRHA^+$ by the other RBC were found pathogenic 76.3 % and 73.5%, respectively.39.3 % of the isolates which did not produce HA by 5 different RBCs were also found to be pathogenic.According to the HA and adhesion test results,the value of the highest adhesion (91.0 %) was obtained with chicken trachea epithelial cells of the organisms exhibiting $MSHA^+$ by guinea pig RBC and $MRHA^+$by the other RBC. It was suggested that these two properties(adhesion to chicken trachea epithelial cells,$MSHA^+$by guinea pig RBC/$MRHA^+$by other RBC) play an important role in the virulence of E.coli for turkeys.

A significant correlation was not found among enterotoxigenicity and enteropatogenicity activities and HA,adhesion,SAT, SR and colicinogenic properties.

KAYNAKLAR

1-Achtman,M.,Mercer,A.,Kusecek,B.,Pohl,A.,Heuzenroeder,M., Aeronson,W.,Sutton,A.and Sılver,R.P.(1983) Six widespread Bacterial Clones Among Escherichia coli K1 Isolates., Infect.Immun.,39:315-335

2-Acres,S.D.(1985) Enterotoxigenic Escherichia coli Infections in Newborn calves:A Review., J.Diary Sci.,68:229-256

3-Acres,S.D.,Isaacson,R.E.Babıuk,L.A. and Kapıtany(1979) Immunization of Calves Against Enterotoxigenic Colibacillosis by Vaccinating Dams with Purified K99 Antigen and Whole Cell bacterins. Infect.Immun.,25:121-126

4-Agüero,M.A.,Harrison,H.and Cabello,F.C.(1983) Increased Frequency of Col V plasmids and Mannose-Resistant Hemagglutinating Activity in an Escherichia coli K1 Population. Infect.Immun.,18:1413-1416

5-Alwis,M.C.L. and Thomlinson,J.R.(1973) The Incidence and Distribution of Colicinogenic and Colisin-sensitive Escherichia coli in the Gastrointestinal Tract of the Pig. J.Gen.Microbiol.,74:45-52

6-Anıng,K.G.,Thomlinson,J.R.,Wray,C.,Sojka,J.and Coulter,J. (1983) Adhesion factor distinct from K88,K99,F41,987P,CFA I and CFA II in Porcine Escherichia coli.,Vet.Rec.,112:251.

7-Aras,K. ve Ersen,G.(1984) Klinik Biyokimya.5.Baskı.Hacettepe TAŞ Kitapçılık Ltd.Şti. Ankara.

8-Arda,M.(1986) Tavukların Önemli Hastalıkları ve Korunma Yolları. Afyon Yem Sanayi A.Ş.Eğitim Yayınları Ankara

9-Arda,M.1978) Genel Bakteriyoloji. A.Ü.Vet.Fak.Yay.no:342 Ders Kitabı 242. A.Ü.Basımevi. Ankara

10-Arda,M.,Akay,Ö. ve İzgür,M.(1983) SeptisemiliPiliçlerden izole edilen E.coli suşlarının bazı biyokimyasal ve patojenik özellikleri üzerinde bir araştırma. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 30:407-417

11-Arda,M.,Mimbay,A.ve Aydın,N.(1982) Özel Mikrobiyoloji. A.Ü.Vet.Fak.Yay.no:386,Ders Kitabı 284.A.Ü.Basımevi.

12-Arp,L.H.(1984) Responce of turkeys to Escherichia coli. Poultry Digest.,April:142-143

13-Arp,L.H.,Graham,L.G.and Cheville,N.F.(1979) Comparison of Clearance rates of Virulent anda Avirulent Escherichia coli in turkeys after Aerosol Exposure. Avian Dis. 23:386-391

14-Arp,L.H.and Jensen,A.E.(1980) Piliation,hemagglutination,motility and generation time of Escherichia coli that virulent or avirulent for turkeys. Avian Dis.24:153-161

15-Ateş,M.,Sezen,Y.,Erganiş,O.ve Çorlu,M.(1986) Konya Bölgesindeki İshalli Buzağılardan İzole Edilen E.coli'lerin Biyokimyasal,Antibiyotiklere Duyarlılık,Bulaşıcı Tipte Plazmid(R-faktor) Taşıma Özellikleri Üzerinde Araştırmalar. S.Ü.Araş. Fonu Projesi. Konya

16-Aydın,N.(1978) Plazmidler,Epizomlar ve Bunların Kalıtsal Olarak Antimikrobiyal Ajanlara Dirençlilikteki Rolleri. Vet.Hek. Dern.Derg.,48:6-15

17-Aydın,N.,İstanbulluoğlu,E.ve Aydın,N.(1984) Yemlere Katılan Çeşitli Antibiyotiklerin Civciv ve Piliçlerin Barsak Florasındaki Koliform Bakterilerin Direnç Durumları Üzerine Etkisi. Doğa Bilim Derg.,Seri-D. 8:5-16

18-Ayhan,H.(1985) İnsan ve Hayvanlardan İzole Edilen Escherichia coli suşlarının Biyokimyasal,Antibiyotiklere Duyarlılık ve Kolisin Plazmidi Taşıma Özellikleri Üzerinde İncelemeler. A.Ü.Vet.Fak.Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.

19-Bandyopadhyay,P.K.and Dhavedkar,R.G.(1984) Escherichia coli Salpingoperitonitis in Poultry.Ind.Vet.J.,61:348-349

20-Barbour,E.K.,Nabbut,N.H.and Al-Hakhi,H.B.(1985) Production of H_2S by Isolated from Poultry:An Unusual Character Useful for Epidemiology of Coliseptisemia. Avian Dis. 29:341-346

21-Beachey,E.H.(1981) Bacterial Adherence:Adhesin-Reseptor Interaction Mediating the Attacment of Bacteria to Mucosal Surfaces. J.Inf.Dis.,143:325-345

22-Bhatia,T.R.S.(1977) Phage Typing of E.coli Isolated from Chickens. Can.J.Microbiol.,23:1151-1153

23-Bilgehan,H.(1983) Genel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilgisi. Bilgehan Basımevi.Bornova, İzmir

24-Blobel,H.and SchlieBer,T.(1981) Handbuch der Bacteriellen Infectionen bei Tieren.Band II.Gustav Fısher Verlag.Stuttgart.

25-Bolin,C.A.(1986) Effects of Exogenous Iron on Escherichia coli septisemia of turkeys. Am.J.Vet.Res.,47:1813-1816

26-Bortolussi,R.,Ferrieri,P.,Björksten,B.and Quie,P.G.(1979) Capsuler K1 Polysaccaride of Escherichia coli:Relationship to Virülence in Newborn Rats and Resistance to Phagocytosis.Infect.Immun.,25:293-298

27-Buchanon,R.E.and Gibbons,N.E.(1974) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8 th ed.,Williams and Wilkins Company,Baltimore.

28-Burges,M.N.,Bywater,R.J.,Cowley,C.M.,Mullan,N.A. and Newsome,D.M.(1978) Biological Evaluation of a Methanol-Soluble,Heat-Stable Escherichia coli Enterotoxin in Infant Mice,Pigs,Rabbits and Calves. Infect.Immun. 21:526-531

29-Buxton,A.and Fraser,G.(1977) Animal Microbiology I. Blac - well Sci.Publ. London.

30-Camphel,R.S.F.(1986) The Pathogenesis and Pathology of Avian Respiratory Infection. Vet.Bull. 56:521-543

31-Canthey,J.R.(1985) Infectious Diarrhea:Pathogenesis and Risk Factors. Am.J.Med.,28:65-75

32-Chabanon,G.,Hartley,C.L.and Richmond,M.H.(1982) In Vitro attachment to a human cell line Escherichia coli strains causing urinary-tract infection:occurence of fimbria in adhesive and non-adhesive strains.Ann.Microbiol.133:357-369

33-Chanter,N.(1983) Partial Purification and Characterization of two non K99 mannose-resistant hemagglutinins of Escherichia coli B41. J.Gen.Microbiol.,129:234-243

34-Cleary,T.G.,Mathewson,J.J.,Faris,E.and Pickering,L.K.(1985) Shiga-Like Cytotoxin Production by Enteropathogenic Escherichia coli serogroups. Infect.Immun.,47:335-337

35-Cloud,T.G.,Rosenberger,J.K.,Fries,P.A.,Wilson,R.A. and Odor,E.M.(1985) In Vitro and in vivo Characterization of Avian Escherichia coli.I. Serotypes,Metabolic Activity and Antibiotic Sensitivity. Avian Dis. 29:1084-1093

36-Cross,A.S.,Gemski,P.,Sadoff,J.C.,Orskov,F.and Orskov,I. (1984) The Importance of K1 Capsule in Invasive Infections Caused by Escherichia coli. J.Inf.Dis.,149:184-193

37-Çakır,N.,Bahar,H.,Şaşmaz,E.,Karamızrak,T.ve Okuyan,M. (1986) Üropatojen Escherichia coli kökenlerini hidrofobik özellikleri ve bunun hemagglutinasyon ve Candida aglutinasyonuyla ilişkisi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 16:74-78

38-Çetin,E.T.,Bozok,C.ve Furtun,M.(1970) E.coli suşlarının Kolisinojenliği ve Kolisin Tip Tayini. İ.Ü.Tıp.Fak.Mec., 33:141

39-Dho,M.and Lafont,J.P.(1982) Escherichia coli colonization of the trachea in poultry:comparison of virulent and avirulent strains in gnotoxenic chickens.Avian Dis.26:787-797

40-Dho,M.and Lafont,J.P.(1984) Adhesive Properties and Iron Uptake Ability in Escherichia coli Lethal and Nonlethal for Chicks. Avian Dis.,28:1016-1025

41-Diker,S.(1984) Koliform Mastitisler. Mastitis Semineri. 147-154 Ankara

42-Diker,S. ve İstanbulluoğlu,E.(1980) Tavuklardan İzole Edilen Escherichia coli Suşlarının Biyokimyasal,Colisine,Lizojenik Karakterleri ve Antibiyotiklere Duyarlılık Oranları Üzerinde İncelemeler. A.Ü.Vet.Fak.Derg.,27:484-490

43-Djonne,B.K.(1985) Colicine Production in Relation to Pathogenicity factors in strains of Escherichia coli isolated from Intestinal Tract of Piglets.Acta.Vet.Scand.,26:145-148

44-Dominic,M.A.,Schmerr,M.J.F.and Jensen,A.E.(1985) Expression of type 1 pili by Escherichia coli strains of highly and low virülence in the intestinal tract of gnotobiotic turkeys. Am.J.Vet.Res.,46:270-273

45-Duguid,Clegg,S.and Wilson,M.I.(1979) The Fimbrial and Non-fimbrial Haemagglutinins of Escherichia coli. J.Med.Microbiol.,12:213-227

46-Duguid,J.P.,Smith,I.W.,Dempster,G.and Edmunts,P.N.(1955) Non-flagellar filamentous appendages("fimbria")and haemagglutinating activity in Bacterium coli.,J.Path. Microbiol.,70:335-343

47-Echeverria,P.,Seriwatana,J.,Taylor,D.N.,Tırapat,C.and Rowe,B.(1985) Escherichia coli contains plasmids coding for heat-stable b. other enterotoxins and antibiotic resistance. Infect.Immun.,48:843-846

48-Ellis,R.P.,Pierre,R.L.,Kirkbride,C.A.and Kieffer,M.M.(1973) Use of Sucling Mice for Detection of Enteropathogenicity of Escherichia coli Isolated from Calves and Pigs. In Proc. 77 th An.Health Assoc.Richmond. 644-649.

49-Evans,D.G.and Evans,D.J.(1978) New Surface-Associated Heat-Labile Colonization Factor Antigen(CFA/II) Produced by Enterotoxigenic Escherichia coli of Serogroups 06 and 08.Infect.Immun.,21:638-647

50-Evans,D.J.and Evans,D.G.(1977) Direct Serological Assay for the Heat-Labile Enterotoxin of Escherichia coli Using Passive Immune Hemolysis. Infect.Immun.,16:604-609

51-Evans,D.G.,Evans,D.J.and DuPont,H.(1979) Hemagglutination Pattern of Enterotoxigenic and Enteropahogenic Escherichia coli Determined with Human,Bovine,Chicken and Guinea pig erythrocytes in the Presence and Absence of Mannose. Infect. Immun.,23:336-346

52-Evans,D.J.,Evans,D.G.and Gorbach,S.I.(1973a) Production of Vascular Permeability Factor by Enterotoxigenic Escherichia coli Isolated from Man. Infect.Immun.,8:725-730

53-Evans,D.G.,Evans,D.J.and Pierce,N.F.(1973b) Differences in the Responce of rabbit small intestine to heat-labile and heat-stable enterotoxins of Escherichia coli. Infect.Immun., 7:873-880

54-Evans,D.J.,Evans,D.G.,Young,L.S.and Pitt,J.(1980) Hemagglutination Typing of Escherichia coli:Definition of seven Hemagglutination Types. J.Cli.Microbiol.,12:235-242

55-Fairbrother,J.M.,Larivıere,S.and Lallier,R.(1986) New Fimbrial Antigen F165 from Escherichia coli serogroup 0115 strains Isolated from Piglets with Diarrhea. Infect.Immun., 51:10-15

56-Fardiaz,S.(1980) Hemagglutination and Adhesive Properties of Escherichia coli Isolated from diseased turkeys. Ph.D. Thesis. Michigan State University. Dho,M.and Lafont,J.P. (1984) Tarafından bildirilmiştir.

57-Faris,A.(1985) Adhesive and Hydrophobic Adsorbtive Properties of Enterotoxigenic and Bovine Mastitis Escherichia coli: Identification of Fibronectin Binding Fimbria. Doctorate Thesis.,Swidish University of Agricultural Sci. Uppsala.

58-Faris,A.,Wadström,T.and Freer,J.H.(1981) Hydrophobic Adsorbtive and Hemagglutinating Properties of Escherichia coli Possesing Colonization Factor Antigens(CFA/I or CFA/II), Type 1 pili or Other Pili. Cur.Microbiol.,5:67-72

59-Fietta,A.,Romero,E.and Siccardi,A.G.(1977) Effect of some R factors on the sensitivity of Rough Enterobacteriaceae to Human serum. Infect.Immun.,18:278-282

60-Finkelstein,R.A.,Yang,Z.,Moseley,S.and Moon,H.W.(1983)Rapid Latex Particle Agglutination Test for Escherichia coli strains of porcine origine producing heat-labile enterotoxin. J.Cli.Microbiol.,18:1417-1418

61-Formal,S.B.,O'Brien,A.and Gemski.P.(1978) Invasive Escherichia coli. J.Am.Med.Ass.,173:596-598

62-Franklin,A.,Soderlind,O.and Mollby,R.(1981) Plasmids coding for enterotoxins,K88 antigen and colicins in porcine E.coli strains of O-group 149.Med.Microbiol.Immunol.170:63-72

63-Fröman,G.,Switalski,L.M.,Faris,A.,Wadström,T.and Höök,M. (1984) Binding of Escherichia coli to Fibronectin. J.Bio. Chemistry.,1259:14899-14905

64-Gianella,R.A.(1976) Sucling Mouse Model for Detection of Heat-Stable Escherichia coli Enterotoxin:Characteristics of the Model. Infect.Immun.,14:95-99

65-Gianella,R.A.,Drake,K.W.and Luttrell,M.(1981) Development of a Radioimmunoassay for Escherichia coli Heat-Stable ehterotoxin:Comparision with the Sucling Mouse Bioassay. Infect.Immun.,33:186-192

66-Glantz,P.J.,Dunne,H.W.,Heist,C.E.and Hokanson,J.F.(1959)Bull. Pennsylvania State Uni.Agr.Exp.Sta.no:645:I.İstanbulluoğlu (1978) Tarafından bildirilmiştir.

67-Gonzales,E.A.and Blanco,J.(1986) Colonization Antigens,Antibiotics Resistance and Plasmid Content of Enterotoxigenic E.coli Isolated from piglets with diarrhoea in Galicia(North-Westren Spain) Vet.Microbiol.,11:271-283

68-Gross,W.B.(1978) Colibacillosis in:Disease of Poultry, 7 th ed. Iowa State Uni.Press.Ames.

69-Gross,W.B. and Domermuth,C.H.(1975) Colibacillosis in:Isolation and Idantification of Avian Pathogens. Edited by Hitcher,S.B.,Domermuth,C.H.,Purchase,H.G.and Williams,J.E. Acnold Printing Corporation. Ithaca,New York 14850

70-Guinee,P.A.M.,Jensen,W.H. and Agteberg,C.M.(1976) Detection of the K99 Antigen by means of Agglutination and Immunoelectrophoresis in Escherichia coli isolates from Calves and its correlation with Enterotoxigenicity.Infect.Immun., 13:1369-1377

71-Guinee,P.A.M.,Veldkamp,J.and Jensen,W.H.(1977) Improved Minca medium for Detection of the K99 Antigen in Calf Enterotoxigenic strains of Escherichia coli .Infect.Immun., 15:676-678

72-Guo,Y.P.,Chen,D.W.and Fang,H.(1983) Studies on the Aetiology of Escherichia coli septisaemia in ducks. Chinese J.Vet.Med., 9:4-5

73-Guyot,G.(1908) Ueber die bakterielle hemagglutination. Zentbl.Bakt.I.Abt.,Orig.,47:640. Duguid,J.P.,Clegg,S.and Wilson,M.I.(1979) Tarafından bildirilmiştir.

74-Gyimah,J.E.,Panıgrahy,B.and Williams,J.D.(1986)Immunogenicity of an Escherichia coli multivalent pilus vaccine in chickens. Avian Dis.,30:687-689

75-Hagberg,L.,Jodal,W.,Korhonen,T.K.,Lidın-Jansen,G.,Lindeburg, U.and Eden C.(1981) Adhesion,Hemagglutination and Virulence of Escherichia coli causing Urinary Tract Infections. Infect.Immun.,31:564-570

76-Harper,M.,Turvey,A. and Bramley,A.J.(1978) Adhesion of Fimbdiate Escherichia coli to bovine Mammary-Gland Epithelial Cells in vitro. J.Med.Microbiol.,11:117-122

77-Harry,E.G. and Chubb,L.G.(1964) Relationships Between certain Biochemical Characteristics .and Pathological Activity in Avian strains of Escherichia coli.J.Comp.Path.,74:180-187

78-Heller,E.and Drabkin,N.(1977) Some Characterization of Pathogenic Escherichia coli strains. Br.Vet.J.,133:572-578

79-Honda,T.,Arıta,M.and Mıwatanı,T.(1984) Characterization of New Hydrophobic Pili of Human Enterotoxigenic Escherichia coli:a Possible New Colonization Factor.Infect.Immun., 43:959-965

80-Isaacson,R.E.(1983) Regulation of Expression of Escherichia coli pilus K99. Infect.Immun.,40:633-639

81-Isaacson,R.E.,Fusco,P.C.,Brinton,C.C.and Moon,H.W.(1978) In Vitro Adhesion of Escherichia coli to Porcine small intestinal Epithelial Cells:Pili as Adhesive Factors, Infect. Immun.,21:392-397

82-İstanbulluoğlu,E.(1977) Hayvanlardaki Antibiyotiklere Dirençli Bakteriler ve Bunların İnsan Sağlığına Zararları.Fırat Ü. Vet.Fak.Derg.,3:144-156

83-İstanbulluoğlu,E.(1978) Septicaemia Neonatorum'lu Buzağılar-İzole Edilen Escherichia coli suşlarının Biyokimyasal,Serolojik,Enterotoksijenik,Antibiyotiklere Duyarlılık,Bulaşıcı tip Plazmid(R-faktor)Taşıma Özellikleri ile İnfekte ve Normal Buzağılardan Elde Edilen Serum Örneklerinin İmmunoglobulin(IgG,IgA,IgM)Miktarları Üzerinde İncelemeler.A.Ü.Vet, Fak.Doçentlik Tezi.

84-İzgür,M.(1983) Kolisinler. A.Ü.Vet.Fak.Derg.,30:234-241

85-İzgür,M.ve İstanbulluoğlu,E.(1982) Sağlıklı Koyunlardan İzole Edilen Escherichia coli Suşlarının Çeşitli Özellikleri Üzerinde İncelemeler.Doğa Vet.Hay./Tar.Orm.,6:29-34

86-Jakovina,M.(1972) Colicine Production by Escherichia coli strains isolated intestines of chickens.Archiv.,42:255-263

87-Jones,G.W.and Rutter,J.M.(1972) Role of the K88 Antigen in the Pathogenesis of Neonatal Diarrhea caused by Escherichia coli in Piglets.Infect.Immun.,6:918-927

88-Kaeckenbeeck,A.,Josse,M.and Schoenaers,F.(1977) Relations chez les Escherichia coli d'origine bovine entrele Pouvoir enteropathogéne,I'antigéne K99 et I'hémagglutination. Ann.Med.Vet.,121:239-248

89-Kauffmann,F.(1948) On Haemagglutination by Escherichia coli. Acta Path.Scand.,25:502. Duguid,J.P.,Clegg,S.and Wilson,M.I. (1979)The Fimbrial and Non-fimbrial Haemagglutinins of Escherichia coli.J.Med.Microbiol.,12:213-227 .Tarafından bildirilmiştir.

90-Keskintepe,H.(1976) İnsan ve hayvanlarda enteropatojenik Escherichia coli enfeksiyonları.İ.Ü.Vet.Fak.Derg.,2:30-46

91-Kıvanç,M.(1984) Erzurum şehri içme sularından izole edilen E.coli suşlarının değişik özellikleri.Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinin Doğal Su Kaynakları Sempozyumu.11-15 Haz. Erzurum.

92-Klemn,P.(1985) Fimbrial Adhesins of Escherichia coli. Rev. Inf.Dis.,7:321-340

93-Koneman,E.M.,Allen,S.D.,Dovell,Jr.V.R.and Sommers,H.M.(1983) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.2th ed. J.B.Lıppıncott Company. Philadelphia.

94-Konowalchuck,J.,Speirs,J.I.and Stavric.S.(1977) Vero Responce to a Cytotoxin of Escherichia coli. Infect.Immun., 18:775-779

95-Krovacek,K.,Faris,A.and Wadström,T.(1983)High Levels of Heat-Labile Escherichia coli Enterotxin in Bacterial Cell Sonicates of Agar Grown Cultures.Zbl.Bakt.Hyg.,I.Abt. Orig.A.225:265-270

96-Lallier,R.,Larıvıere,S.and St-Pierre,S.(1980)Escherichia coli Heat-Stable Enterotoxin:Rapid Method of Purification and Some Characteristics of the Toxin.Infect.Immun., 28:469-474

97-Lassen,J.(1975) Rapid Identification of Gram-negative rods Using a Three-Tube Methods Combined with a Dichotomic Key. Acta Path.Microbiol.Scand.Sect.B.,83:525-533

98-Leloğlu,N.(1967) Erzurum ve dolaylarında izole edilen E.coli suşlarının serotiplerinin tespiti üzerinde araştırmalar.A.Ü.Vet.Fak.Doktora Tezi.

99-Lister,S.A.and Alexander,D.J.(1986) Turkey Rhinotracheitis: A Review. Vet.Bull.,56:636-663

100-Maddox,C.W and Wilson,R.A.(1986) High Technology Diagnostics:Detection of Enterotoxigenic Escherichia coli,Using DNA probes.J.A.V.M.A.,188:57-59

101-Mainil,J.G.,Moseley,S.I.,Schneider,S.S.,Kathlen,S.S.,Casey, T.A.and Moon,H.W.(1986) Hybridization of Bovine Escherichia coli isolates with ene probes four enterotoxins(STaP,STaH,

STb.LT) and one Adhesion factor (K99).J.Am.Vet.Res., 47:1145-1148.

102-Makela,P.H.and Mayer,H.(1976)Enterobacterial Common Antigen.Bacteriol.Rev.,40:591-632

103-McEwen,A.D.(1950) The Resistance of the Young Calf to Disease.Vet.Rec.,62:83 İstanbulluoğlu (1978) Tarafından bildirilmiştir.

104-Middlebrook,J.L.and Dorland,R.B.(1984) Bacterial Toxins: Cellular Mechanisms of Action.Microbiol.Rev.,48:199-221

105-Moon,H.W.,Fung,P.Y.,Whipp,S.C.and Isaacson,R.E.(1978) Effects of Age and Ambient Temperatüre on the Responce of Infant mice to Heat-stable Enterotoxins of Escherichia coli:Assay Modifications. Infect.Immun.,20:36-39

106-Moon,H.W.,McDonald,J.S.(1983) Antibody Responce of Cows to Escherichia coli pilus Antigen K99 after oral Vaccination with live or dead bacteria.Am.J.Vet.Res.,44:493-496

107-Moon,H.W.,Whipp,S.C.,Engstrom,G.and Baetz,A.L.(1970)Responce of the rabbit ileal loop to cell free products from Escherichia coli enteropathogenic for swine. J.Inf. Dis.,121:182-187

108-Morris J.A.,Thorns,C.,Scott,A.C.,Sojka,W.J.and Wells,G.A. (1982) Adhesion In Vitro and In Vivo Associated with an Adhesive Antigen(F41) Produced by a K99 mutant of the Reference stranis Escherichia coli B41.Infect.Immun., 36:1146-1153

109-Morris,J.A.Wells,G.A.H.,Scott,W.J.and Sojka,W.J.(1983)Colonization of the small intestine of lambs by an Enterotoxigenic E.coli producing F41 fimbria. Vet.Rec.,113:471

110-Nagaraja,K.V.,Emerey,D.A.,Jordan,K.A.,Sıvanandan,V.,Newman, J.a.and Pomeroy,B.S.(1984) Effect of ammonia on the quantitative clearance of Escherichia coli from lungs,air sac and livers of turkeys aerosol vaccinated against Escherichia coli.Am.J.Vet.Res.,45:392-395

111-Nagaraja,K.V.,Emerey,D.A.,Newman,J.A.and Pomeroy,B.S.(1983) Identification and Isolation of Somatic Pili from pathogenic Escherichia coli of turkeys.Am.J.Vet.Res.,44:284-287

112-Nagy,B.(1980) Vaccination of Cows with a K99 Extract to Protect Newborn calves against experimentally Enterotoxic Colibacillosis.,Infect.Immun.,27:21-24

113-Nagy,L.K.,MacKenzie,T.and Painter,K.R.(1983) Protection of the nursing pig against experimentally induced enteric colibacillosis by vaccination of dam with fimbrial antigen of Escherichia coli(K88,K99and 987P).Vet.Rec.,117:408-413

114-Nagy,L.K.,Pickard,D.and Bhogai,B.S.(1983) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELİSA)for Detection of Enteropathogenic Escherichia coli in the faeces of Experimentally Infected Pigs. Proceedings III.Int.Sym.Vet.Diag.,545-551

115-Nalin,R.R.,Levine,M.M.,Young,C.R.Bergquist,E.J.and McLaughlin,J.C.(1978) Increased Escherichia coli enterotoxin detection after concentrating culture supernatents:possible new enterotoxin detectable in dogs but not mice. J.Cli . Microbiol.,8:700-703

116-Naveh,M.W.,Zusman,T.,Skutelsky,E.and Zon,E.Z.(1984) Adherence pili avian strains of Escherichia coli:Effects on Pathogenicity.,Avian Dis.,28:651-661

117-Nilus,A.M.and Savage,D.C.(1984) Serum Resistance Encoded by Colicin V Plasmids in Escherichia coli and its Relationship to the Plasmid Transfer System. Infect.Immun.,43:947-953

118-Old,D.C.(1972) Inhibition of the Interaction Between Fimbrial Haemagglutinins and Erythrocytes by D-mannose and other carbonhidrates. J.Gen.Microbiol.,71:149-157

119-Oliveira,M.S.,Pestana de Castro,A.F.,Serafim,M.B.and Giorgi, W.(1981) Mannose-resistant haemagglutination and Colonization factors among Escherichia coli strains isolated from pigs. Vet.Rec.,109:275-278

120-Olson,P.,Hedhammar,A.,Faris,A.,Krovacek,K.and Wadström,T. (1985) Enterotoxigenic Escherichia coli(ETEC)and Klebsiella pneumoniae isolated from dogs with diarrhoea.Vet.Microbiol., 10:577-589

121-Orkov,F.(1978) Virülence Factors of the Bacterial Cell surfaces. J.Inf.Dis.,137:630-633

122-Orskov,I.and Orskov,F.(1977) Special O:K:H serotypes among Enterotoxigenic E.coli strains from diarrhea in Adults and Children:Occurance of the CF(Colonisation Factor)Antigen and of Hemagglutinating Abilities.Med. Microbiol.Immunol.,163:99-110

123-Orskov,I.,Orskov,F.,Sojka,W.J.and Leach,J.M.(1961) Simultaneous occurance of E.coli B and L antigens in strains from diseased swine.Acta Path.Microbiol.Scand., 92:107-138

124-Pal,T.,Pacsa,A.S.,Emödy,L.,Vörös,S.and Selley,E.(1985) Modified enzyme-linked immunosorbent assay for detecting enteroinvasive Escherichia coli and virulent Shigella strains. J.Clin.Microbiol.,21:415-418

125-Panhotra,B.R.,Mahanta,J.and Agarwel,K.C.(1981) Enteropathogenicity of Salmonella typhimurium. Indian J.Med. Res.,73:847-852

126-Pearson,G.R.and Logan,E.F.(1983) The Pathology of Neonatal Enteritis in Calves with Observation on E.coli, Rotavirus and Cryptosporidium.Ann.Reach.Vet.,14:422-426

127-Peeters,J.E.,Charlier,G.J.and Raeymaekers,R.(1985)Scannig and Transmission Electron Microscoy of Attaching E.coli in Weanling Rabbits.Vet.Pathol.,22:54-59

128-Pestana de Castro,A.F.,Serafim,M.B.,Rangel,H.A.and Guerrant,R.L.(1978) Swiss and Inbred Mice in the Infant Mouse Test for the Assay of Escherichia coli Thermostable Enterotoxin.Infect.Immun.,22:972-974

129-Pohl,P.,Lintermans,Pand Moury,J.(1981) Colicine Production by Pathogenic E.coli Domestic Mammals.Ann.Med.Vet., 125:567-570

130-Pluschke,G.,Mayden,J.,Achtman,M.and Levine,R.P.(1983)Role of the Capsule and the O antigen in Resistance of O18:K1 Escherichia coli to Complement-Mediated Killing. Infect. Immun.,42:907-913

131-Quackenbush,R.and Falkow,S.(1979) Relationship Between Colicin V Activity and Virulence in Escherichia coli. Infect.Immun.,24:562-564

132-Rainard,P.(1986) Bacteriostasis of Escherichia coli by bovine lactoferrin,transferrin and immunoglobulin(IgG1, IgG2,IgM)Acting alone or in combination. Vet.Microbiol., 11:103-115

133-Raskova,H.and Raska,K.(1980) Enterotoxins from Gram Negative Bacteria Relevant for Veterinary Medicine. Vet.Res.Comm.,4:195-224

134-Richter,T.and Hellmann,E.(1985) Occurance and Properties of Enterotoxigenic Escherichia coli strains from young dog with enteritis. Zbl.Vet.Med.B.,32:446-453

135-Rosenberger,J.K.,Fries,P.A.,Cloud,S.S.and Wilson,R.A.(1985) In Vitro and In Vivo Characterization of Avian Escherichia coli:II.Factor Associated with Pathogenicity.Avian.Dis., 29:1094-1107

136-Rosenberger,J.K.,Fries,P.A.and Cloud,S.S.(1985)In Vitro and In Vivo Characterization of Avian Escherichia coli: III.Immunization. Avian Dis.,29:1108-1117

137-Rosental,L.(1943) Agglutinating properties of Escherichia coli.Agglutination of erythrocytes,leucocytes,thrombocytes, spermatozoa,spores of molds and pollen by strains of E.coli. J.Bact.,45:545.,Duguid,J.P.,Clegg,S.S.and Wilson,M.I.(1979) The Fimbrial and Non-fimbrial Haemagglutinins of Escherichia coli.J.Med.Microbiol.,12:213-227.Tarafından bildirilmiştir.

138-Sack,D.A.and Sack,R.B.(1975) Test for Enterotoxigenic Escherichia coli Using Y-1 Adrenal Cell in Miniculture. Infect.Immun.,11:334-336

139-Salit,I.E.and Gotschlich,E.C.(1977) Type 1 Escherichia coli Pili:Characterization of Binding to Monkey Kidney Cells,J.Exp.Med.,146:1182-1194

140-Sanchez-Carlo,V.,McDonald,J.S.and Packer,R.A.(1984)Virulence Factors of Escherichia coli isolated from cows with acute Mastitis.Am.J.Vet.Res.,45:1775-1777

141-Sanhez-Carlo,V.,Wilson,R.A.,McDonald,J.S. and Packer,R.A. (1984) Biochemical and Serologic Properties of Escherichia coli isolated from cows with acute mastitis. Am.J.Vet.Res., 45:1771-1774

142-Scaletsky,I.C.A.,Sılva,M.L.and Trabulsi,L.R.(1984) Distinctive Patterns of Adherence of Enteropathogenic Escherichia coli to HeLa Cells. Infect.Immmun.,45:534-536

143-Sesli,O.T.(1985) Sığırlardan İzole Edilen Escherichia coli suşlarının Hemagglutinasyon Yeteneklerinin İncelenmesi Üzerinde Çalışmalar.Etlik Vet.Mikrob.Enst.Derg.,5:84-103

144-Sherman,D.M.,Acres,S.D.,Sadowski,P.L.,Springer,J.A.,Bray,B., Raybould,T.J.G.and Muscoplat,C.C.(1983) Protection of Calves Against Fatal Enteric Colibasillosis by Orally Administered Escherichia coli K99-Spesific Monoclonal Antibody. Infect. Immun.,42:653-658

145-Sihvonen,L.and Miettinen,P.(1985) Rotavirus and Enterotoxigenic Escherichia coli Infections of Calves on Closed Finnish Dairy Farm.Acta Vet.Scand.,26:205-217

146-Smith,H.W.(1962) Observation on the Aetiology of Neonatal Diarrhoea(scours) in calves.,J.Path. Microbiol.84:147.İstanbulluoğlu(1978)Tarafından bildirilmiştir.

147-Smith,H.W.(1978) Transmissible Pathogenic Characteristics of Invasive Strains of Escherichia coli.JAVMA173:601-607

148-Smith,H.W.and Hall.S.(1968) The Transmissible Nature of the Genetic Factor in Escherichia coli that Controls Enterotoxins Production. J.Gen.Microbiol.,52:319-334

149-Smith,H.W.and Huggins,M.B.(1976) Further Observation on the Association of the Colicine V Plasmid of Escherichia coli with Pathogenicity and with survival in the alimentary tract. J.Gen.Microbiol.,92:335-350

150-Smith,H.Wand Linggood,M.A.(1971) Observation on the Pathogenic Properties of the K88,HLY and Plasmids of Escherichia coli with Particular Reference to Porcine Diarrhea. J.Med. Microbiol.,4:467-485

151-Sojka,W.J.(1965) Escherichia coli in Domestic Animals and Poultry.Commonwealt Agr.Bureaux.Fanrham Royal Buck.England.

152-Sojka,W.J.and Carnaghan,R.B.A.(1961) Escherichia coli Infection in Poultry. Res.Vet.Sci.,2:340-351

153-Speirs,J.I.,Stavric,S.and Konowalchuk.j.(1977) Assay of Escherichia coli Heat-Labile Enterotoxin with Vero Cells. Infect.Immun.,16:617-622

154-Suwanichkul,A.and Panigrahy,B.(1986) Biological and Immunological Characterization of Pili of Escherichia coli Serotypes O1,O2,and O78 Pathogenic to Poultry.Avian Dis., 30:781-787

155-Sweeney,G.and Freer,J.H.(1979) Location of Binding sites on Common Type 1 Fimbria from Escherichia coli . J.Gen. Microbiol.,112:321-328

156-Truszcynski,M.(1984) Escherichia coli-Infectionen beim Shchat.Mh.Vet.Med.,39:813-816

157-Vasenius,H.(1967) The Colicinogenic Properties of Porcine Escherichia coli strains.Acta Vet.Scand.,8:195-200

158-Wadström,T.,Adegbola,R.A.,Baloda,S.B.,Ljungh,A.,Sethi,S.K. and Yuk.V.R.(1986) Non-haemagglutinating Fimbria of Enterotoxigenic E.coli(EPEC).Zbl.Bakt.Microbiol.Hyg.A., 261:417-424

159-Wadström,T.,Smith,C.J.,Faris,A.,Jonsson,P.and Freer,J.H. (1978) Hydrophobic Adsorbtive and Haemagglutinating Properties of Enterotoxigenic Escherichia coli with different Colonising Factors:K88,K99 and Colonization Factor Antigens and Adherence Factor.Pro.2th Int.Sym. Neonatal Diarrhea., 29-55

160-Whipp,S.C.,Moseley,S.L. and Moon,H.W.(1986) Microscopic alterations in jejunal epithelium of 3 week-old pigs induced by pig-spesific,mouse-negative,heat-stable Escherichia coli enterotoxin. Am.J.Vet.Res.,47:615-618

161-Williams,P.H.(1979) Novel Iron Uptake System Spesified by Col V plasmids:An Important Companant in the Virulance of Invasive strains of Escherichia coli.Infect.Immun.,26:925-932

ÖZGEÇMİŞ

1959 yılında Adana'nın Kozan ilçesinde doğdum.İlk ve orta öğrenimimi İmamoğlu nahiyesinde,Lise öğrenimimi Bolu Erkek İlköğretmen Okulu'nda tamamladım.1976/77 öğretim döneminde bir yıl Bolu Eğitim Enstitüsü'nde okudum. 1982 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden mezun oldum.Yaklaşık 10 ay serbest Veteriner Hekim olarak çalıştım.Nisan-1983/Temmuz-1984 tarihleri arasında askerlik görevimi yaptım.Ağustos-1984 'de Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı araştırma görevlisi olarak atandım.Aynı yıl A.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne doktora öğrencisi olarak kaydımı yaptırdım. Üçüncü sömestride S.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne nakil oldum.Halen S.Ü.Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her döneminde yardım ve ilgilerini esirgemeyen sayın hocalarım Prof.Dr.Hümeyra ÖZGEN ve Prof.Dr.Ersin İSTAVROULLUOĞLU'na içten duygularla teşekkür ederim.

Kontrol suşları olarak kullandığım E.coli K12 K88 ve E.coli K12 K99 suşları gönderen,National Veterinary Institute-Norveç'den Dr.Berit K. DJONNE'ye,E.coli K12 ve Row ile kolisinojenik E.coli suşlarını veren A.Ü.Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç. Dr.Müjgan İZGÜR ve Biolog Hatice AYHAN'a,E.coli O78 suşunu veren Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden Uzm.Vet.Hekim Muhsin BEKAR'a ve denemelerde kullanılan civcivlerin temin edildiği Altıncivciv Tavukçuluk İşletmesi yetkililerine teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince yardım ve desteklerini gördüğüm Bilim Dalımız Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr.Mehmet ATEŞ'e, Biolog Mehmet ÇORLU'ya ve Araş.Gör.Osman KAYA'ya ayrıca teşekkürü bir borç bilirim.