

**SAĞLIKLI VE İSHALLİ KUZULARDAN İZOLE EDİLEN E.COLİ
SUŞLARININ BİYOKİMYASAL, KOLİSİNOJENİK VE MANNOZ
REZİSTAN HEMAGLUTİNASYON ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDE İNCELEMELER***

Mehmet Çorlu**

Investigation on biochemical, colicinogenic and mannose resistant hemagglutination characteristics of E. coli strains isolated from healthy and diarrhoeic lambs.

Summary: *In this study, biochemical, colicinogenic, hemagglutination (HA), mannose sensitive hemagglutination (MSHA) and mannose resistant hemagglutination (MRHA) characteristics of 200 E. coli strains isolated from neonatal healthy and diseased lambs have been examined.*

There was no significant differences as to the biochemical characteristics of the strains isolated from healthy and diarrhoeic lambs. No hemolytic activity was found in all isolates.

In HA tests, using different species of erythrocytes (human, bovine, chicken, guinea-pig and ovine) multiple HA patterns were observed. MRHA, MSHA and HA (—) rates of the organisms originated from healthy and diseased lambs, were found to be 28 %—32 % for MRHA, 27 %—31 % for MSHA and 45 %—37 % for HA (—). There was not significant differences in MRHA, MSHA and HA (—) characteristics of two groups.

While 10 % of E. coli strains isolated from healthy lambs was colicinogenic, 13 % of them was isolated from diseased lambs.

Özet: *Bu çalışmada, yeni doğan sağlıklı ve hastalıklı kuzulardan izole edilen 200 E. coli suşu, biyokimyasal, kolisinogenik, hemagglutinasyon (HA), mannoz sensitiv hemagglutinasyon (MSHA) ve mannoz rezistan hemagglutinasyon (MRHA) özellikleri yönünden incelendi.*

Sağlıklı ve ishalleri kuzulardan izole edilen E. coli suşları arasında, biyokimyasal özellikleri bakımından belirgin bir fark bulunamadı. Suşların hiç birinde hemolitik aktiviteye rastlanmadı.

* Bu çalışma, Mehmet Çorlu'nun aynı başlıklı Yüksek Lisans Tezi'nden özetlenmiştir.

** Biyolog, S.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.

Değişik eritrosit türleri (insan, sığır, tavuk, kobay ve koyun) kullanılarak yapılan HA testlerinde farklı HA verileri görüldü. Sağlıklı ve hastalıklı kuzu orijinli suşların, MRHA, MSHA ve HA (—) oranları, sırasıyla, % 28—% 32'si MRHA, % 27—% 31'i MSHA ve % 45—% 37'si HA (—) olarak belirlendi. İki grubun MRHA, MSHA ve HA (—) karakterleri arasında belirgin farklar yoktu.

Sağlıklı kuzulardan izole edilen E. coli suşlarının % 10'u kolisinijenik iken, bu oran hasta kuzulardan izole edilenlerde % 13 olarak bulundu.

Giriş

Sıcak kanlıların barsak florasında kommensal yada saprofit olarak bulunan ve doğumdan çok kısa bir süre sonra memeli ve kanatlıların barsak sistemlerine yerleşen Escherichia coli'ler, çeşitli infeksiyonlara neden olurlar. İntensif koyun yetiştiriciliği yapılan ülkelerin yeni doğan kuzularında yetersiz beslenme ve hijyen kurallarına uyulmadığı durumlarda E. coli'ler, büyük ekonomik kayıplar oluşturmaktadır (4, 21).

E. coli suşlarına çeşitli infeksiyonlarda rastlanmasına rağmen, patojenitesinin tespitinde en büyük güçlük, mikroorganizmanın saprofit veya patojen olanlarının, kültürel, biyokimyasal ve serolojik karakterlerine göre tam olarak ayırt edilememesidir (18). İnsan ve hayvanların klinik materyallerinden izole edilen E. coli'lerin patojenitesinin belirlenmesinde, toksin varlığı yanında spesifik fimbriyal antijenlerin de gösterilmesinin gerekli olduğu bildirilmektedir (19). E. coli'lerin ince barsak yüzeylerine yapışma özelliği olan adhezyon'da, fimbriyal veya diğer bakteri yüzey yapıları önemli rol oynadığından, son yıllarda araştırmacıları konakçı ve bakteri açısından adhezyon faktörlerinin belirlenmesine yöneltmiştir (16, 17). Bazı araştırmacılar (6, 12, 14), E. coli'lerin, mannoz rezistan hemaglutinasyon (MRHA) salt agregasyon (SAT), hidrofobik adsorpsiyon (HIC), serum rezistan (SR) ve adhezyon gibi yüzey yapıları ile hemolizin ve kolisin salgılama özelliklerini inceleyerek bu özellikler ile patojenite arasında ilişkiler olabileceğini ileri sürmektedirler.

Bu çalışmanın amacı, yeni doğan sağlıklı ve ishalleri kuzulardan izole edilen E. coli suşlarının, biyokimyasal, hemolizin, kolisin ve MRHA özelliklerini karşılaştırmalı olarak incelemektir.

Materyal ve Metot

E. coli için örneklerin toplanması:

Suş izolasyonu için, Konya bölgesinin değişik mahalle ve köylerinden, yetiştirici elinde bulunan yeni doğmuş sağlıklı ve ishalli kuzuların rektumlarından steril sıvaplarla alınan dışkı örneklerinden yararlanıldı. Sağlıklı ve ishalli kuzulardan toplanan 215 dışkı örneğinden 200 E. coli (sağlıklı 100 ve ishalli 100) suşu izole edilerek çalışmaya alındı.

Standart E. coli suşları:

Bu amaçla, insan, sığır ve kobay eritrositleri ile mannoz sensitiv hemaglutinasyon için E. coli K12 suşu kullanıldı. İnsan ve sığır eritrositleri ile mannoz rezistan hemaglutinasyon (MRHA) için E. coli 078, kobay eritrositlerinin MRHA testi için E. coli K12 K88 suşları kontrol olarak kullanıldı. Kolisin testinde ise, tüm kolisin tiplerine duyarlı E. coli Row suşu kullanıldı.

E. coli K12, E. coli Row, E. coli 078 ve E. coli K12 K88 suşları S.Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı Kültür stoklarından temin edildi.

Besiyerleri:

Sağlıklı ve ishalli kuzulardan alınan dışkı örneklerinden E. coli izolasyonu için, kanlı agar, MacConkey agar ve Tryptic Soy Broth (TSB)'dan yararlanıldı.

MRHA testleri için kullanılan kolonizasyon faktör antijen (CFA) agar, Evans ve ark. (13)'na göre hazırlandı: Casamino acide (Difco) 10.0 gr., Yeast extract (Difco) 1.5 gr., MgSO₂ 0.05 gr., MnCl₂ 0.005 gr., Agar (Difco) 20.0 gr. ve Distile su 1000 ml. Besiyeri 121°C de 15 dakika otoklavdan sonra pH 7.4 olacak şekilde ayarlandı.

E. coli suşlarının izolasyon ve identifikasyonu:

Toplanan örneklerden E. coli izolasyon ve identifikasyonu klasik metotlara göre yapıldı (9, 20).

Hemaglutinasyon testleri:

MSHA ve MRHA testlerinde, insan (A-grubu), sığır, tavuk, kobay ve koyun eritrositleri Evans ve ark. (13)'na göre hazırlanarak kul-

lanıldı. Bu amaçla, vericilerden alınan heparinli (Liquemine Roche) kanlar, 800—900 devirde 15 dakika olmak üzere 3 kez PBS (pH 7.2) ile yıkandı. PBS ile “mannozsuz” ve %1’lik D-mannoz ile “mannozlu” olarak 1/4’lük eritrosit süspansiyonları hazırlandı. Sulandırılmış eritrositler günlük hazırlanırken, 3 gün içerisinde kullanılmayan stok eritrositler atıldı.

Hemaglutinasyon testleri Evans ve ark. (13)’nın bildirdikleri metod’a göre yapıldı. Bu amaçla, nutrient agarlarda saklanan suşlar, kolonizasyon faktör antijen (CFA) agarlara ekilerek 37°C’de 18 saat üretildiler. Tek tek yada yaygın üremiş bakteri kolonileri öze ile alınarak, 1/4 oranında sulandırılmış eritrositlerin 1 damla sıyyla (0.02 ml) oda derecesinde ve lam üzerinde iyice homojenize edilerek 1 dakika bekletildi. Yaklaşık 1 dakikalık uygulamadan sonra HA vermeyen suşlar, buz üzerine yerleştirilerek 2 dakika tutuldu. Sonuçlar, 4+, 3+, 2+, 1+ ve (—) olarak değerlendirildi. HA’un aynı derecelerinin %1’lik mannozlu ortamda meydana gelmesi MRHA pozitif olarak değerlendirildi. Mannozsuz eritrositlerle HA oluştururken, mannozlu eritrositlerle HA vermeyen E. coli’ler MSHA pozitif olarak kabul edildiler. Her iki ortamda HA vermeyen E. coli suşları ise HA (—) olarak değerlendirildiler.

E. coli’lerin, insan, sığır, tavuk ve kobay eritrositleri ile oluşturdıkları HA’ları ifade eden HA formüllerinin hazırlanması Evans ve ark (13)’na göre yapıldı. Bu formüllere göre, örneğin, “NRSS” formülünde HA veren bir E. coli suşu sırasıyla, insan eritrositi ile HA (—), sığır eritrositi ile MRHA, tavuk ve kobay eritrositleri ile MSHA oluşturmuştur.

Kolisin aranması :

Djonne (7) tarafından bildirilen metod’a göre yapıldı. Bu metod’a göre, TSB buyyonlarda 37°C de 18—24 saat üretilmiş test suşları, %5 koyun kanlı hazırlanmış TSA agarlara hat şeklinde ekilerek 37°C de bir gece inkübe edildiler. İnkübasyondan sonra, 1—2 saat kloroform buharına tutulan kültürler, steril lam’larla kazınarak alındılar. Tekrar 30 dakika kloroform buharına bırakılan kültürler, 1 saat kadar petri kapakları yarı açık tutularak kloroformun uçması sağlandı. Kanlı TSA agarda üretilmiş ve 1 kolonisi 5 ml FTS ile homojenize edilmiş E. coli Row suşu, üreme hattına dikey olarak ekildi. Oda ısısında 1 saat kadar tutulan kültürler 37°C de bir gece inkübe edildiler. Sonuçlar, ekim hatlarının kesişim noktalarında inhibisyon zonlarının oluşumu, test suşlarının kolisin aktivitesi olarak değerlendirildi.

Bulgular

E. coli'lerin biyokimyasal özellikleri:

Sağlıklı ve ishallerden izole edilen 200 *E. coli* suşunun biyokimyasal özellikleri tablo 1'de gösterilmiştir. İncelenen suşların tamamı *E. coli* için tipik biyokimyasal özellikleri göstermiştir.

Tablo 1. *E. coli* suşlarının Biyokimyasal özelliklerinin dağılımı.

Test	Sağlıklı				İshaller			
	Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Glukoz	100	100	—	0.0	100	100	—	0.0
Laktoz	100	100	—	0.0	100	100	—	0.0
H ₂ S	—	0.0	100	100	—	0.0	100	100
İndol	100	100	—	0.0	100	100	—	0.0
Üreaz	—	0.0	100	100	—	0.0	100	100
Mannitol	100	100	—	0.0	100	100	—	0.0
Nitrat	100	100	—	0.0	100	100	—	0.0
Hareket	69	69	31	31	77	77	23	23
TD*	—	0.0	100	100	—	0.0	100	100
MR**	100	100	—	0.0	100	100	—	0.0
VP***	—	0.0	100	100	—	0.0	100	100
Sitrat	—	0.0	100	100	—	0.0	100	100
Hemoliz	—	0.0	100	0.0	—	0.0	100	100

* : Tryptophane Deaminase

** Metil Red

*** : Voges-Proskauer.

Bu çalışmada kullanılan 200 *E. coli* suşunun hiç birinde hemoliz aktivitesine rastlanmadı.

Hemaglutinasyon testleri:

Çalışmada incelenen 200 *E. coli* suşunun, MRHA, MSHA ve HA (—) verileri tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir. Sağlıklı ve ishallerden izole edilen *E. coli* suşlarının HA verileri tüm eritrositlerle genelleştirildiğinde, sırasıyla, % 28—% 32'si MRHA, % 27—% 31'i MSHA oluştururken, suşların % 45—% 37'si HA (—) bulundu. En yüksek MRHA oluşumu (% 15—% 25) sığır eritrositleri ile, en yüksek MSHA oluşumu (% 29—% 50) tavuk eritrositleri ile alındı.

İnsan, sığır, tavuk ve kobay eritrositleri ile bir *E. coli* suşunun oluşturduğu HA tiplerinin, aynı sıra ile ve yan yana gösterilmeleri

Tablo 2. Sağlıklı kuzulardan izole edilen 100 E.coli suşunun HA özelliklerinin dağılımı.

HA tipi	İnsan		Sığır		Tavuk		Kobay		Koyun		Genel*	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
MRHA	5	5.0	15	15.0	9	9.0	—	0.0	2	2.0	28	28.0
MSHA	16	16.0	11	11.0	29	29.0	25	25.0	4	4.0	27	27.0
HA(—)	79	79.0	74	74.0	62	62.0	75	75.0	94	94.0	45	45.0

Tablo 3. İshalli kuzulardan izole edilen 100 E.coli suşunun HA özelliklerinin dağılımı.

HA tipi	İnsan		Sığır		Tavuk		Kobay		Koyun		Genel*	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
MRHA	7	7.0	25	25.0	—	0.0	—	0.0	5	5.0	32	32.0
MSHA	26	26.0	5	5.0	50	50.0	37	37.0	5	5.0	31	31.0
HA(—)	67	67.0	70	70.0	50	50.0	63	63.0	90	90.0	37	37.0

*: Çalışmada kullanılan 5 tür eritrosit ile HA vermeyen suşlar HA(—), en az biri ile mannoz rezistan hemaglutinasyon veren suşlar "MRHA" ve en az bir eritrosit ile mannoz sensitiv hemaglutinasyon veren suşlar ise "MSHA" olarak geliştirildiler.

şeklinde hazırlanan HA formüllerinin, sağlıklı ve ishallerli kuzu orijinli E. coli suşları için 24 farklı şekli tespit edildi. NNNN, SNSS, NNSS ve SRSS formülleri sırasıyla, % 45—% 37, % 6—% 10, % 3—% 10 ve % 1—% 7 oranlarında bulundu. Geriye kalan (% 45— % 36) E coli suşları 20 farklı HA formülü oluşturdu.

Kolisin aktivitesi:

İzole ve identifiye edilen 200 E. coli suşunun, kolisin salgılama özellikleri yönünden yapılan incelemelerinde, sağlıklı kuzu orijinli 10 (% 10), ishallerli kuzu orijinli 13 (% 13) suşun pozitif olduğu tespit edildi (tablo 4).

Tablo 4. Kuzulardan izole edilen E. coli suşlarının kolisin salgılama özelliklerinin dağılımı.

Kaynak	İncelenen suş	Pozitif		Negatif	
		n	%	n	%
Sağlıklı	100	10	10.0	90	90.0
İshallerli	100	13	13.0	87	87.0

Kolisin sentezleyen bu suşların HA özelliklerine göre dağılımı tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. HA özelliklerine göre kolisinojenik E.coli suşlarının dağılımı.

HA tipi	Sağlıklı		İshalli	
	n	%	n	%
MRHA	5	17.9	6	18.8
MSHA	5	18.5	5	15.2
HA(—)	—	0.0	2	5.5

Tartışma ve Sonuç

Patojenik E. coli'lerin oluşturduğu neonatal sepsisemi ve ishaller, gerek sığır ve gerekse koyunculuk endüstrisinin en önde gelen sorunlarından birisidir. USA'da neonatal kuzu ishallerine neden olan E. coli'lerin, 30 günlüğe kadar olan bütün kuzularda % 45'lere varan kayıplar oluşturduğu bildirilmektedir (21). Ülkemizde beslenme ve yetiştirme koşullarının ileri sayılabilecek bir düzeyde olmaması nedeniyle bu kaybın çok daha fazla olacağı açıktır.

Değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarla (3, 5, 10, 18), E. coli suşları arasında, biyokimyasal özellikleri yönünden bir homojenlik olduğu bildirilmektedir.

Bu çalışmada, sağlıklı ve ishallerden izole edilen E. coli suşlarının, biyokimyasal özellikleri arasında bir fark bulunamamış olması, patojenik ve saprofitik E. coli'lerin biyokimyasal aktivitelerine göre ayrılmayacağını bildiren araştırmacıları (3, 5, 10) destekler niteliktedir.

K88, K99, F41, CFA, X ve tip 1 gibi fimbrial antijenlerin, değişik eritrositlerle farklı hemaglutinasyonlara neden olmalarından dolayı (8, 14), birçok araştırmacı (10, 11, 15, 23), izole ettikleri E. coli suşlarının HA özelliklerinin, hemoliz aktivitesi, kolisinojenik, patojenik ve enteropatojenik karakterleri ile ilişkilerini incelemişlerdir.

Valente ve ark. (23), ishallerden izole ettikleri 84 E. coli suşunun, % 35.7'sinin MRHA⁺, % 13.1'inin MSHA⁺, % 51.2'sinin ise HA vermediğini ve MRHA⁺ suşların çoğunluğunun K99 antijenine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Gonzales ve Blanco (15), MRHA özelliğinin, ishallerden izole edilen E. coli'lerde %

43.6, sağlıklılardan izole edilenlerde ise % 17.2 oranında olduğunu ve MRHA özellikleri arasında bir ilişki bulamadıklarını rapor etmişlerdir. Erganiş ve ark. (11), ishali buzağılardan izole ettikleri E. coli suşlarının, MRHA, MSHA ve HA (—) özelliklerinin, sırasıyla, % 44.7, % 46.8 ve % 8.5 olduğunu ve HA karakterleri ile enteropatojenite arasında belirgin bir ilişki bulamadıklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada incelenen, sağlıklı ve ishali kuzu orijinli E. coli suşlarının HA (MRHA, MSHA ve HA) yetenekleri arasında belirgin bir ilişki bulunamamıştır.

Alınan bu sonuçlar, E. coli'lerin HA yeteneklerinin, sağlıklı ve ishali hayvanların fekal floralarından izole edilen suşların ayırımında kullanılmayacağını bildiren araştırmacıların (11, 15) bulgularını destekler niteliktedir.

Agüero ve ark. (1), üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen E. coli K1 popülasyonundaki suşlarda, MRHA ve kolisin aktivitesinin, aynı hastaların barsaklarından izole edilen aynı popülasyondaki suşlardan daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Arai ve ark. (2), klinik vakalardan izole ettikleri insan orijinli E. coli suşlarının, % 13'ünün kolisinojenik olduğunu ve kolisin aktivitesi ile MRHA yetenekleri arasında bir ilişki bulamadıklarını bildirmişlerdir. Vaisanen-Rhen (22), üriner sistem infeksiyonlarından ve sağlıklı insan dışkılarından izole edilen 075 serotipine dahil E. coli suşlarının, sırasıyla, % 33 ve % 50'sinin kolisinojenik karakterde olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, MRHA ve kolisin aktivitesi arasında bir ilişki bulamadığını da rapor etmiştir. Erganiş (10), hindi dışkılarından izole ettiği 192 E. coli suşunun, % 6.2'sinin kolisin aktivitesine sahip olduğunu bildirmiştir.

Bu çalışmada, sağlıklı kuzularda 10 (% 10), ishali kuzularda ise 13 (% 13) kolisinojenik E. coli suşu izole edilmiştir. Sağlıklı ve ishali kuzulardan izole edilen MRHA⁺ E. coli'lerin, sırasıyla, % 17.9 (5 suş) — % 18.8 (6 suş)'i, MSHA⁺ suşlarının % 18.5 (5 suş) — % 15.2 (5 suş)'si ve HA (—) ishali kuzu orijinli E. coli'lerin ise % 5.5 (2 suş) inin kolisinojenik karakterde olduğu tespit edilmiştir. Kolisin aktivitesi ile MRHA yetenekleri arasında bir ilişki bulunamamıştır. Bu sonuçlar, Arai ve ark. (2) ile Vaisanen -Rhen (22)'in bulgularını destekler niteliktedir.

Sonuç olarak, sağlıklı ve ishali kuzulardan izole edilen E. coli suşlarının, biyokimyasal, hemoliz, kolisin üretimi ve MRHA özellikleri arasında önemli bir fark olmadığı ve bu özelliklere göre patojenik ve saprofitik E. coli'lerin ayrılamayacağı görüşüne varılmıştır.

Kaynaklar

1. **Agüero, M.E., Harrison, H. and Cabello, F.C.** (1983) *Increased Frequency of Col-V Plasmids and Mannose-Resistant Hemagglutinating Activity in an Escherichia coli K1 Population.* J. Clin. Microbiol. 18: 1413-1416.
2. **Arai, T., Komatsu, S. and Ullah, A.** (1984) *Drug Resistant and Bioactive E. coli in Beijing.* Chin. Med. J. 97: 819-824.
3. **Ateş, M., Sezen, İ.Y., Erganiş, O. ve Çorlu, M.** (1987) *Konya bölgesindeki ishalleri buzağılardan izole edilen E. coli'lerin, biyokimyasal, antibiyotiklere duyarlılık, bulaşıcı tipte plazmid (R-faktör) taşıma özellikleri üzerinde araştırmalar.* S.Ü. Vet. Fak. Derg. 3: 167-178.
4. **Blobel, H. und Schlisser, T.** (1981) *Handbuch der Bakteriellen Infektionen bei Tieren.* Band III. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart.
5. **Braaten, B.A. and Myers, L.L.** (1977) *Biochemical Characteristics of Enteronogenic and Nonenterotoxigenic Escherichia coli isolated from Calves with Diarrhea.* Am. J. Vet. Res. 38: 1989-1991.
6. **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.
7. **Djonne, B.K.** (1985) *Colicin Production in Relation to Pathogenicity Factors in strains of Escherichia coli isolated from the intestinal tract of Piglets.* Acta Vet. Scand. 26: 145-152.
8. **Duguid, J.P., Clegg, S. and Wilson, M.I.** (1979) *The Fimbrial and Nonfimbrial Hemagglutinins of Escherichia coli.* J. Med. Microbiol. 12: 213-227.
9. **Edwards, P.R. and Ewing, W.H.** (1972) *Identification of Enterobacteriaceae.* th.ed. Burgess Publishing Company. Minneapolis. Minnesota.
10. **Erganiş, O.** (1987) *Hindilerin fekal florasından izole edilen E. coli suşlarının bazı patojenite özellikleri üzerinde incelemeler.* S.Ü. Vet.Fak. Doktora Tezi.
11. **Erganiş, O., Ateş, M., Kaya, O. ve Çorlu, M.** (1987) *Konya bölgesindeki ishalleri buzağılardan izole edilen E. coli'lerin biyokimyasal, hemagglutinasyon, mannoz rezistan hemagglutinasyon ve enteropatojenik özellikleri üzerinde araştırmalar.* TÜBİTAK. Proje No: VHAG-687.
12. **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.
13. **Evans, D.J., Evans, D.G. and DuPont, H.L.** (1979) *Hemagglutination Patterns of Enterotoxigenic and Enteropathogenic Escherichia coli Determined with Human, Bovine, Chicken and Guinea Pig Erythrocytes in the Presence and Absence of Mannose.* Infect. Immun. 23: 336-346.
14. **Faris, A.** (1985) *Adhesive and Hydrophobic Adsorptive Properties of Enterotoxigenic and Bovine Mastitis Escherichia coli: Identification of Fibronectin Binding Fimbrias.* Doctorate Thesis. Swedish University of Agricultural Sci. Uppsala.
15. **Gonzales, E.A. and Blanco, J.** (1986) *Colonization Antigens Antibiotic Resistance and Plasmid Content of Enterotoxigenic Escherichia coli isolated from piglets with Diarrhoea in Galicia (North-Western Spain).* Vet. Microbiol. 11: 271-283.

16. **Harper, M., Turvey, A. and Bramley, A.J.** (1977) *Adhesion of Fimbriate Escherichia coli the Bovine Mammary-Gland Epithelial Cells in vitro.* J. Med. Microbiol. 11: 117-123.
17. **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.
18. **İstanbulluoğlu, E.** (1978) *Septicaemia Neonatorum'lu buzağılarından izole edilen Escherichia coli suşlarının biyokimyasal, serolojik, enterotoksijenik, antibiyotiklere duyarlılık, bulaşıcı tiş plazmid (R-faktör) taşıma özellikleri ile enfekte ve normal buzağılarından elde edilen serum örneklerinin immunoglobulin (IgG, IgA, IgM) miktarları üzerinde incelemeler.* A.Ü. Vet. Fak. Doçentlik Tezi.
19. **Kaeckenbeek, A., Josse, M. and Schoenaers, F.** (1977) *Relations chez les Escherichia coli d'origine bovine entrale Pouvoir enteropatogene, l'antigene K99 et l'Hemagglutination.* Ann. Med. Vet. 121: 239-248.
20. **Lassen, J.** (1975) *Rapid Identification of Gram-Negative Rods Using a Three-tube Method Combined with a Dichotomic Key.* Acta Path. Microbiol. Scand. 83: 525-533.
21. **Trusczyński, M.** (1984) *Escherichia coli Infection beim Schaf.* Mh. Vet. Med. 39: 813-816.
22. **Vaisanen-Rhen, V.** (1984) *Fimbria-Like Hemagglutinin Escherichia coli 075 strains.* Infect. Immun. 46: 401-407.
23. **Valente, C., Cardaras, P., Fruganti, G. and Kashari, Q.** (1983). *Escherichia coli isolated from calves with diarrhoea: Mannose-Resistant Hemagglutination and Colonisation Factor.* Ann.Rech.Vet. 14: 207-210.