

Kedi ve köpeklerden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının biyokimyasal, patojenite ve toksijenite özelliklerinin araştırılması*

Sibel ÖZKÖK

Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Ankara

Özet: Bu çalışmada ishalleri, sistitisli ve sağlıklı köpekler ile sağlıklı kedilerden alınan idrar ve dışkı örnekleri *Escherichia coli* yönünden araştırıldı. Ishalleri 187 köpekten 102'si (%54.5) *Escherichia coli* yönünden pozitif bulundu ve toplam 198 suş izole edildi. İzole ve identifiye edilen *Escherichia coli*'lerin sorboz, hemoliz, mannoz sensitive hemagglütinasyon (MSHA), mannoz rezistans hemagglütinasyon (MRHA) özellikleri incelendi ve HeLa hücre kültürü, tavşan deri testi ve fare letalite testlerine tabi tutuldu. HeLa hücre kültürü ve tavşan deri testinin her ikisinde de pozitif reaksiyon veren toplam 61 adet suşun sitotoksik nekrotizan faktör (CNF) toksini sentezlediği saptandı. CNF pozitif suşların %22.9'u fareler üzerinde letal etki gösterdi. İzole edilen *Escherichia coli*'lerin virülensle ilgili olan sorboz fermentasyon, hemoliz, MRHA ve MSHA özellikleri sırasıyla %68.4, %8.5, %26.7 ve %20.6 olarak saptandı. *Escherichia coli* izole edilen hayvanın türü ve klinik durumu ile suşların virülens faktörleri arasında ve virülens faktörlerinin kendi aralarında direkt bir ilişki saptanamadı.

Anahtar kelimeler: *Escherichia coli*, kedi, köpek, sitotoksik nekrotizan faktör, virülens

Biochemical, toxigenic and pathogenic characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from cats and dogs

Summary: In this study, the urine and fecal specimens taken from the healthy dogs and cats and the ones having cystitis and diarrhoea were examined with respect to *Escherichia coli*. 102 of 187 (54.5%) diarrhoeic dogs were found to be positive for *Escherichia coli*. The sorbose, haemolysis, MSHA and MRHA characteristics of the strains were examined. Virulence factors were investigated by HeLa cell culture, rabbit skin test and mouse lethality test. Totally 61 strains that gave positive reactions in both HeLa cell culture and rabbit skin test were found to produce cytotoxic necrotising factor (CNF) toxin. 22.9% of the CNF positive strains showed lethal effect in mouse. Sorbose fermentation, haemolysis, MRHA and MSHA were positive in 68.4%, 8.5%, 26.7% and 20.6% of *E.coli* strains, respectively. No direct correlation was determined between the species and the clinical status of the animal that *Escherichia coli* was isolated and the virulence factors of the strains as well as between the virulence factors.

Key words: Cat, cytotoxic necrotising factor, dog, *Escherichia coli*, virulence

Giriş

Escherichia coli memeli ve kanatlıların normal barsak florasında bulunan, Gram negatif, çomak şeklinde, çoğu zaman hareketli, aerob veya fakültatif anaerob bakteridir. Bu mikroorganizma çoğunlukla normal vücut florasında bulunur. *E.coli* kedi ve köpeklerde özellikle intestinal hastalıklara ve septisemi, sistit, pyelonefrit, metrit, pyometra gibi extraintestinal enfeksiyonlara neden olabilmektedir (16).

Caprioli ve ark. (3), 1980'lerde, tavşan derisinde nekrotik lezyonlara neden olan bir toksin izole etmişlerdir. HeLa ve Vero hücrelerinde de morfolojik değişikliklere neden olan bu toksin sitotoksik nekrotizan faktör veya CNF olarak isimlendirilmiştir (3). Sitotoksik nekrotizan faktör (CNF) olarak bildirilen iki toksinin sonik ekstraktlarının *in vitro* ve *in vivo* toksik özellikleri incelenmiş; tip 1'in, HeLa hücre kültüründe yaygın multinükleasyon ve hücrelerde yuvarlaklaşmaya neden olduğu, tavşan deri testinde nekroz yaptığı ve mouse fo-odpad testte de nekroz oluşturduğu, tip 2'nin, multinükleasyonla karakterize, HeLa hücrelerinde polimorfizm ve uzamaya neden olduğu ve tavşan deri testi ve mouse fo-

odpad testinin her ikisinde de şiddetli nekrotik yanıt oluşturduğu saptanmıştır (4).

Bu çalışma ile kedi ve köpek dışkılarında, otopsi materyallerinde ve idrarlarında toksijenik ve patojenik karakterdeki *E.coli*'lerin sıklığının belirlenmesi ve bu suşların virülens özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca, CNF toksin sentezleyen suşların doku kültürü ve deneme hayvanlarında yaptığı değişiklikler ile sorboz fermentasyonu, hemoliz, mannoz rezistans hemagglütinasyon ve toksin sentezi gibi virülensle ilişkili özellikleri karşılaştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Örneklerin toplanması

E.coli izolasyonu için ishalleri 187 ve sağlıklı 63 köpek ve sağlıklı 23 kideden dışkı örnekleri toplandı. Travmatize edilerek sistitis oluşturulmuş 8 köpekten idrar örnekleri alındı.

Besi yerleri

E.coli izolasyonu için KA (%5 koyun kanlı), Mac Conkey Agar ve EMB Agar kullanıldı. Suşlarının toksin

*Bu çalışma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu desteği ile (Proje No: 95 30 00 13) yapılmış olup aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

aktivitelerinin belirlenmesinde TSB ve TSA kullanıldı. Hemolitik özelliklerinin ortaya konulması için 2-3 mm kalınlığında TSA üzerine 2-3 mm kalınlığında %5 koyun kanlı agar dökülerek hazırlanan besi yeri kullanıldı (9). MRHA testi için kolonizasyon faktör antijen agar (CFA) kullanıldı (6). İzole edilen suşların biyokimyasal özelliklerinin saptanmasında Lassen (10)'in "üçlü tüp" besi yeri kullanıldı.

Hücre kültürleri

Toksijenik özelliklerin belirlenmesinde HeLa ve Vero hücre kültürleri kullanıldı. Sitotoksikite testi için, 96 gözlü mikrotiter plate gözlerine, tripsinizasyondan sonra her gözde 4×10^4 hücre/ml⁻¹ üretime ortamı olacak şekilde 150 µl hücre süspansiyonu konuldu ve 37°C'de inkübe edildi (5).

Deneme hayvanları

CNF özelliğini belirlemek için dermonekrotik toksin testinde 2 kg ağırlığında Yeni Zelanda ırkı erkek tavşanlar kullanıldı. Fare letalite testi için 20-25 g ağırlığında beyaz fareler kullanıldı. Virülens faktörlerinin araştırılması için sorboz fermentasyon testi (13), hemoliz testi (7), mannoz rezistans hemagglütinasyon testi (6) yapıldı.

Sonik ekstraktın elde edilmesi

İncelenen suşlar TSA'da, 37°C'de 18 saat inkübe edildikten sonra 20 ml TSB (pH=7.5) içeren 250 ml'lik erlenmayerlere bir öze dolusu geçilerek çalkalayıcıda (200 rpm) 37°C'de 20 saat inkübe edildi. 10 ml kültür alınarak +4°C'de 10000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi ve çöktürü 10 ml PBS (pH=7.2) ile süspansiyon edildi. Suşlar +4°C'de sonik ekstraksiyona (30 sn x 10 kez) tabi tutuldu. Sonik ekstraktlar 0.22 µm'lik membran filtreden geçirildi ve -70°C'de saklandı (2.4).

HeLa ve Vero hücre kültürlerinde CNF toksin aranması

Mikroplaterlerin gözlerine taksim edilmiş hücrelerin üzerine her bir sonik ekstraktın 50 µl'si ilave edildi ve 38°C'de 72 saat %5 CO₂ içeren ortamda inkübasyona bırakıldı. HeLa hücreleri 48. saatte, Vero hücreleri 24, 48 ve 72. saatlerde kontrol edilerek değişiklikler incelendi. HeLa hücre kültüründe hücrelerin %50'sinde yuvarlaklaşma ve yaygın multinükleasyon görülenler CNF 1 şüpheli, hücrelerin %80'inde multinükleasyon, polimorfizm ve uzama görülenler ise CNF 2 şüpheli olarak değerlendirildi (2).

Tavşan deri testi

Tıraş edilmiş tavşanın sırt derisi içine 0.1 ml sonik ekstrakt enjekte edildi. 48 saat sonra enjeksiyon bölgesinde oluşan yangı, nekroz ve ülser gözle değerlendirildi (4).

Fare letalite testi

Her bir sonik ekstrakt 2'şer adet fareye i.p. olarak 0.5 ml verildi. 7 gün içinde e. az bir farede görülen ölüm pozitif olarak değerlendirildi (4).

Bulgular

Kedi ve köpeklerden izole ve identifiye edilen 247 adet suşun her birine patojenite ile ilişkili olan sorboz fermentasyonu, hemoliz ve mannoz rezistans hemagglütinasyon testi (MRHA) yapıldı. Toplam 169 adet suş (%68.4) sorbozu fermente etti. 21 adet suş (%8.5) hemoliz oluşturdu; 66 adet suş (%26.7) MRHA ve 51 adet suş (%20.6) MSHA özelliği gösterdi (Tablo 1).

HeLa ve Vero hücre kültürlerinde CNF toksin bulguları

Sitotoksik aktivitenin saptanması için HeLa ve Vero hücre kültürleri kullanıldı. İshalli köpeklerden izole edilen

Tablo 1. Patojenite ve toksijenite test sonuçları.
Table 1. The results of the pathogenity and toxigenity tests.

Hayvan türü	Suş sayısı	Sorboz f. (%)	Hemoliz (%)	MRHA (%)	MSHA (%)
Köpek	Ishalli (198)	135 (68.2)	21 (10.6)	59 (29.7)	40 (20.2)
	Sistitisi (15)	6 (40)	0	0	4 (26.6)
	Normal (23)	21 (91.3)	0	5 (21.7)	3 (13)
Kedi	Normal (11)	7 (63.6)	0	2 (18.1)	4 (36.3)
Toplam	247	169 (68.4)	21 (8.5)	66 (26.7)	51 (20.6)

Tablo 2. İncelenen 204 adet *Escherichia coli* suşunun CNF bulguları.
Table 2. The CNF results of examined 204 *Escherichia coli* strains.

Hayvan türü	Suş sayısı	CNF		
		HeLa (%)	Tavşan d.t.(%)	CNF + (%)
Köpek	Ishalli (158)	48 (30.3)	49 (31)	45 (28.4)
	Sistitisi (12)	6 (50)	5 (41.6)	5 (41.6)
	Normal (23)	7 (30.4)	9 (39.1)	7 (30.4)
Kedi	Normal (11)	5 (45.4)	4 (36.3)	4 (36.3)
Toplam	204	66 (32.3)	67 (32.8)	61 (29.9)

158 *E.coli* suşunun sonik ekstraktlarından 48'i (%30.3), sistitisli köpeklerden izole edilen 12 suştan 6'sı (%50) ve sağlıklı köpeklerden izole edilen 23 suştan 7'si (%30.4) ve sağlıklı kedilerden de izole edilen 11 suştan 5'i (%45.4) ve toplam 204 suştan 66'sı (%32.3) HeLa hücrelerinin %50'sinde multinükleasyona, sitoplazmasında genişleme ve yuvarlaklaşmaya (CNF1 şüpheli) neden oldu (Tablo 2).

Vero hücre kültüründe oluşan sitopatik etki iyi anlaşılmadığı için değerlendirilmeye alınmadı.

Tavşan deri testi

Tavşan derisi içine 0.5 ml. sonik ekstrakt verilerek oluşturulan sitotoksik nekrotizan etki 204 suşun 67'sinde (%32.8) saptandı. Pozitif reaksiyonlar ishallerli köpek suşlarının 49'unda (%31), sistitisli köpek suşlarının 5'inde (%41.6) ve sağlıklı köpek suşlarının 9'unda (%39.1) ve sağlıklı kedi suşlarının da 4'ünde (%36.3) saptandı (Tablo 2).

Kedi ve köpeklerden izole edilen *E.coli* suşlarından saptanan CNF toksini ile sorboz fermentasyonu, hemoliz, MRHA ve fare letalite testleri arasındaki ilişki ayrı ayrı incelenmesi sonucunda bir ilişki saptanamadı (Tablo 3).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, kedi ve köpeklerden alınan idrar ve dışkı örnekleri *E.coli* izolasyon sıklığı yönünden araştırıldı. Patojen *E.coli*'lerin sahip olduğu virülens faktörleri (sorboz, hemoliz, MRHA, CNF) incelendi ve bu virülens faktörlerinin birbirleri ile ilişkileri değerlendirildi. Suşların hemoliz, CNF ve fare letalite gibi toksijenik özellikleri baz alınarak toksijenik fenotipleri belirlendi.

Kucera ve ark. (8), üriner sistem infeksiyonu olan 60 köpek ve 10 kedi ve sağlıklı 92 köpek ve 18 kediden alınan idrar örneklerinden sırasıyla 25'inde (%41.6), 3'ünde (%30), 17'sinde (%18.4) bakteriyüri saptamışlar; 18 kediden alınan idrar örneklerinden bakteriyüri saptanamamış ve 47 adet köpekten %24,3 adet kediden de %2 oranında *E.coli* izole etmişlerdir. Bu çalışmada, sistitisli köpeklerde bulunan *E.coli* izolasyonu oranı Kucera ve ark. (8)'nin bulduğu orandan daha yüksek bulundu.

Bu çalışmada sağlıklı köpeklerin %33.3'ünden, ishallerli köpeklerin %54.5'inden, sistitisli köpeklerin %87.5'inden ve sağlıklı kedilerin %21.7'sinden *E.coli* izolasyonu yapıldı.

Çeşitli araştırmalarda (11,12,13) patojen olarak kabul edilen *E.coli*'lerin sorbozu hemen fermente ettiğinin bil-

dirilmesi nedeniyle suşlar sorboz fermentasyon testine tabi tutuldu. Toplam 247 adet *E.coli* suşundan 169'unun (%68.4), CNF olarak değerlendirilen 61 adet suştan 43 adedinin (%70.4) sorbozu fermente ettiği bulundu. Pohl ve ark. (13)'ün yaptığı bir çalışmada da üriner sistem infeksiyonu yapan ve CNF I sentezleyen *E.coli* suşlarının çoğunun sorbozu hemen fermente ettiği bildirilmiş, ancak oran verilmemiştir. Buna rağmen, bu çalışma ile arasında büyük bir fark saptanamadı. Bu sonuç, CNF pozitif *E.coli*'lerin çoğunun sorbozu hemen fermente ettiğini onaylamaktadır.

Wilson ve ark. (17), ürogenital infeksiyonlu ve sağlıklı, kedi ve köpekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada 55 adet köpek ve 28 adet kediden alınan dışkı örneklerinden izole ettikleri *E.coli* suşlarının virülens özelliklerini incelemiş ve 89 adet köpek fekal suşundan 20'sinin (%22) ve 90 adet kedi fekal suşundan 41'inin (%46) hemolizin ürettiğini saptamışlardır. Bu çalışmada, sadece köpek fekal suşlarından izole edilen *E.coli*'lerin hemolizin üretme oranı Wilson ve ark. (17)'nin çalışmasına nispeten yakınlık gösterdi. Senior ve ark. (15), üriner sistem infeksiyonlu köpeklerden izole ettikleri 82 adet *E.coli* suşunun 43 adedinin (%52.4) hemolizin özelliği gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmada bulunan hemoliz oranı yalnız ishallerli köpeklerden izole edilen suşların hemolizin özelliği göstermesinden dolayı diğer çalışmalardan daha düşük çıkmıştır.

Hemoliz özelliği bu çalışmada CNF pozitif 61 suşun 7'sinde (%11.4) saptandı. Ishallerli köpeklerden izole edilen 45 CNF pozitif suşun 7'sinde (%15.5) hemoliz de pozitif bulundu. Sistitisli ve sağlıklı köpekler ile sağlıklı kedilerden izole edilen suşlardan hiçbirinde hemoliz ve CNF birlikte pozitif bulunmadı. Prada ve ark. (14), gastro enteritli köpeklerden izole ettikleri CNF toksin üreten 24 suşun 17'sinde (%70.8) hemoliz özelliği saptamışlardır. Pohl ve ark. (12), CNF pozitif bulunan *E.coli* suşlarının çoğunun hemoliz ürettiğini bulmuşlardır. Bulunan bu sonuçlar bu çalışmada bulunan sonuçtan yüksektir. Bu çalışmadan çıkan sonuçlara göre CNF ile hemolitik aktivite arasında yakın bir ilişki bulunmamaktadır.

Bu çalışmada ishallerli köpek suşlarından 40'ı (%20.2), sağlıklı köpek fekal suşlarından 3'ü (%13) ve sağlıklı kedi fekal suşlarından 4'ü (%36.3) MSHA özelliği gösterdi. Sistitisli köpek suşlarından 4'ü (%26.6) MSHA özelliği gösterdi. Bununla birlikte, 1 suş (%0.4) insan, 24 suş (%9.7) kobay, 21 suş (%8.5) tavşan ve 16 suş (%6.4)

Tablo 3. İncelenen 247 adet suşun virülens faktörleri ve birbirleri ile ilişkileri.

Table 3. The virulence factors of examined 204 *Escherichia coli* strains and correlation between the factors.

Hayvan türü	Klinik tablo	CNF	Sorboz	Hemoliz	MRHA	Fare letalite
Köpek	Ishallerli (198)	45 (%22.7)	135 (%68.2)	21 (%10.6)	59 (%29.7)	9 (%4.5)
	Sistitisli (15)	5 (%33.3)	6 (%40)	0	0	0
	Normal (23)	7 (%13.1)	21 (%91.3)	0	5 (%21.7)	3 (%13.1)
Kedi	Normal (11)	4 (%36.3)	7 (%63.6)	0	2 (%18.1)	2 (%18.1)
Toplam	247	61 (%24.6)	169 (%68.4)	21 (%8.5)	66 (%26.7)	14 (%5.6)

köpek eritrositleri ile MSHA verdi. Wilson ve ark. (17), köpek fekal suşlarının %35'inde, kedi fekal suşlarının %45'inde ve kedi ürogenital suşlarının yalnız %13'ünde MSHA saptamışlardır. Bu çalışmadaki MSHA oranları ile Wilson ve ark. (17)'nin çalışmasındaki MSHA oranları arasında yakınlık vardır.

Bu çalışmada, koyun ve tavşan eritrositleri ile hiç MRHA görülmedi. En fazla köpek eritrositleri ile (%18.2) MRHA özelliği görüldü. Köpeklerden izole edilen suşların daha çok köpek eritrositleri ile MRHA vermesi anlamlı olabilir. Bu durumda suşların köpeklere adapte olduğu düşünülebilir. Tavuk eritrositleri ile %9.7 MRHA özelliği görüldü. Sağlıklı köpeklerden izole edilen fekal suşların %21.7'si, ishalleri köpeklerden izole edilen fekal suşların %29.7'si ve sağlıklı kedilerden izole edilen fekal suşların da %18.1'i incelenen eritrositlerden en az biri ile MRHA özelliği gösterdi. Senior ve ark. (15), üriner sistem infeksiyonlu 86 köpek suşunun 32'sinin (%37.2) köpek eritrositleri ile MRHA özelliği verdiğini saptamışlardır. Bu çalışmada MRHA oranının daha düşük olması, köpek eritrositleri ile hemaglutinasyonun büyük bir kısmının ishalleri köpeklerden izole edilen suşlardan sağlanmasına bağlanabilir. Ancak, bu çalışmada bulunan MRHA oranları Wilson ve ark. (17)'nin fekal suşlardan bulunduğu oranlarla uyum göstermektedir. Wilson ve ark. (17)'nin ürogenital infeksiyonlu köpek ve kediler üzerinde yaptığı çalışmada köpek ürogenital suşlarından %15'inin, köpek fekal suşlarından %5'inin ve kedi suşlarından da %15'inin MRHA özellikte olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada HeLa hücre kültüründe sitopatik etki yapan, tavşan deri testinde pozitif reaksiyon oluşturan toplam 61 (%24.6) adet suşun CNF toksini ürettiği saptandı. Ishalleri köpek suşlarından 45'i (%22.7), sistitisli köpek suşlarından 5'i (%33.3) ve sağlıklı köpek suşlarından 7'si (%13.1) ile sağlıklı kedi suşlarından 4'ü (%36.3) CNF pozitif bulundu. Blanco ve ark. (1), sağlıklı kedilerden izole ettikleri 56 izolattan 12'sinde (%48) CNF 1.159 adet izolattan bir (%0.62) adedinde CNF 2 toksini saptamışlardır. Bu sonuç ile bu çalışmada bulunan sonuç uyumludur. Prada ve ark. (14), gastroenteritli köpeklerden izole ettikleri 24 hemolitik *E.coli* suşundan 17'sinin (%70.8) CNF aktivitesi gösterdiğini saptamışlardır. Bu çalışmada ishalleri köpeklerden izole edilen 21 hemolitik suştan 7'si (%33.3) CNF aktivitesi gösterdi.

Bu çalışmada ishalleri köpeklerden izole edilen suşlardan 9'u (%4.5), sağlıklı köpeklerden izole edilen suşlardan 3'ü (%13.1) ve sağlıklı kedilerden izole edilen suşlardan 2'si (%18.1) fare letalite testinde pozitif bulundu. Ayrıca, CNF pozitif bulunan 61 suştan 14'ü (%22.9) fare letalite testinde pozitif bulundu. Blanco ve ark. (1), yaptıkları çalışmada sağlıklı kedilerden izole ettikleri 36 *E.coli* suşunun sonik ekstraktlarını fare letalite testi ve tavşan deri testine tabi tutmuşlar ve toksijenik *E.coli* suşlarından %81'inin bu testleri pozitif verdiğini saptamışlardır. Dolayısıyla, suşların %81'inin hem CNF yö-

nünden pozitif olduğunu hem de CNF pozitif olan tüm suşların fare letalite testinde pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Blanco ve ark. (1)'nin çalışması ile bu çalışma uyum göstermemektedir. De Rycke ve ark. (4), insanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada fare letalite testinde her suştan 5'er adet fareye i.p. olarak sonik ekstrakt vermişler ve 14 adet CNF1 pozitif suştan 7 adedinin, 5 fareden 1 veya 2 tanesini öldürdüğünü ve bir adedinin de öldürmediğini bulmuşlardır. CNF2 pozitif olan suşların %100, CNF 1 pozitif olan suşların daha az öldürücü özellik taşıdığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, CNF pozitif bulunan tüm suşlar CNF 1 pozitif suşlardır; bu nedenle bu oran diğer çalışmalardan daha düşük bulundu. Ayrıca, 74 adet suşun her birine fare letalite testi için ancak iki fare kullanılabildiği için bu oran daha düşük çıkmış olabilir.

E.coli suşlarının virülens özellikleri ile ilgili bu çalışmada, bazı literatürler ile uyumlu, bazıları ile uyumsuz bulguların elde edildiği dikkati çekmiştir. Bunun nedenleri genel olarak incelendiğinde; hayvanlarda yaygın olarak bulunan ve konakçı spesifitesi olmayan *E.coli*'lerin bu duruma neden olabileceği varsayılmaktadır. Mikroorganizmaya ait bu faktörün yanında, coğrafik suş farklılıklarının da önemi olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, *E.coli* izole edilen hayvanların hastalık tablolarının spesifik olmadığı ve dolayısıyla elde edilen sonuçların farklı yorumlara yol açtığı da düşünülmektedir. Bunun yanında, diğer araştırmaların bulguları kendi aralarında karşılaştırıldığında, çok zıt sonuçlara varılabildiği de görülmektedir. Tüm bunlar göz önüne alındığında, *E.coli* virülens faktörlerinin tek bir kalıp içinde değerlendirilemeyeceği ve her bir coğrafik bölgeye, hayvan türüne ve klinik tabloya göre suşların farklılık gösterebileceği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Blanco J, Blanco M, Wong I, Blanco JE (1993): *Haemolytic Escherichia coli strains isolated from stools of healthy cats produce cytotoxic necrotizing factor type 1 (CNF1)*. Vet Microbiol. **38**, 157-165.
2. Blanco J, Gonzales EA, Blanco M, Alonso MP, Barbadillo J (1988): *Toxins and serotypes of fecal non-enterotoxigenic and non-enteropathogenic Escherichia coli strains causing mannose-resistant haemagglutination: Relation with hemagglutination patterns*. Zbl Bakt Hyg A. **269**, 43-55.
3. Caprioli A, Falbo V, Roda LG, Ruggeri FM, Zona C (1983): *Partial purification and characterization of an Escherichia coli toxic factor that induces morphological cell alterations*. Infect Immun. **39**, 1300-1306.
4. De Rycke J, Gonzales EA, Blanco J, Oswald E, Blanco M, Boivin R, De Rycke J (1990): *Evidence for two types of cytotoxic necrotizing factor in human and animal clinical isolates of Escherichia coli*. J Clin Microbiol. **28**, 694-699.
5. De Rycke J, Guillet JF, Boivin R (1987): *Cytotoxins in non-enterotoxigenic strains of Escherichia coli isolated from feces of diarrheic calves*. Vet Microbiol. **15**, 137-150.

6. **Evans DG, Evans DJ, Dupont H** (1979): *Haemagglutination pattern 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.
7. **Izgür M** (1981): *Sağlıklı Koyunlardan İzole Edilen Escherichia coli Suşlarının Çeşitli Özellikleri Üzerinde İncelemeler*. Doktora Tezi. Ankara Üniv Vet Fak. Ankara.
8. **Kucera J, Celer V, Nesnalova E** (1992): *Bacteriological findings in the urine of dogs and cats*. Veterinarstvi, **42**, 177-178.
9. **Lariviere S, Lallier R** (1976): *Escherichia coli strains isolated from diarrheic pigs in the province of Quebec*. Can J Comp Med. **40**, 190.
10. **Lassen J** (1975): *Rapid identification of gram-negative rods using three-tube methods combined with a dictotomic key*. Acta Path Microbiol Scand Sect B. **83**, 525.
11. **Pohl P, Daube G, Mainil J, Lintermans P, Kaeckenbeek A, Oswald E** (1992): *Virulence factors and phenotypes of 61 strains of Escherichia coli of bovine origin that produce the cytotoxic necrotizing factor type 1 (CNF1)*. Ann Réch Vét. **23**, 83-91.
12. **Pohl P, Mainil J, Devriese LA, Haesebrouck F, Broes A, Lintermans P, Oswald E** (1992): *Escherichia coli productrices de la toxine cytotoxique necrosante de type 1 (CNF1) isolées à partir de processus pathologiques chez des chats et des chiens*. Ann Méd Vét. **137**, 21-25.
13. **Pohl P, Oswald E, Van Robaeys G, Stockmans F, Lintermans P, Mainil J** (1993): *Tests simples pour le diagnostic presuma des Escherichia coli isolées principalement chez les bovins et productrices des cytotoxines necrosantes (CNF)*. Ann Méd Vét. **137**, 503-505.
14. **Prada J, Baljer G, De Rycke J, Steinruck H, Zimmermann S, Stephan R, Beutin L** (1991): *Characteristics of α -haemolytic strains of Escherichia coli isolated from dogs with gastroenteritis*. Vet Microbiol. **29**, 59-73.
15. **Senior DF, Man PDE, Svanborg C** (1992): *Serotype, hemolysin production, and adherence characteristics of strains of Escherichia coli causing urinary tract infection in dogs*. Am J Vet Res. **53**, 494-498.
16. **Westerlund B, Pere A, Korhonen TK, Jarvinen AK, Shtonon A, Williams PH** (1987): *Characterisation of Escherichia coli strains associated with canine urinary tract infections*. Res Vet Sci. **42**, 404-406.
17. **Wilson RA, Keefe TJ, Davis MA, Browning MT** (1988): *Strains of Escherichia coli associated with urogenital disease in dogs and cats*. Am J Vet Res. **49**, 743-746.

Yazışma adresi:

Dr. Sibel Özkök

Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve

Araştırma Enstitüsü, Ankara