



**SU ÜRÜNÜ KAYNAKLI ENTEROKOK
İZOLATLARININ ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTE
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ**

Gözde SOYSAL



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SU ÜRÜNÜ KAYNAKLI ENTEROKOK İZOLATLARININ
ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTE POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ**

Gözde SOYSAL
Orcid No: 0000-0003-1640-3405

Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2020

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Gözde SOYSAL tarafından hazırlanan "SU ÜRÜNÜ KAYNAKLI ENTEROKOK İZOLATLARININ ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTE POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY

Başkan : Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY
0000-0002-8851-1803
Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza



Üye : Doç. Dr. Yasemin ŞAHAN
0000-0003-3457-251X
Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ufuk BAĞCI
0000-0002-1511-2465
Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN
Enstitü Müdürü

..!..!..!



B.U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

21/02/2020

Gözde SOYSAL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SU ÜRÜNÜ KAYNAKLI ENTEROKOK İZOLATLARININ ANTIMİKROBİYEL AKTİVİTE POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ

Gözde SOYSAL

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY

Bu çalışmanın amacı çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilen enterokok izolatlarının antimikrobiyel aktivite potansiyellerinin belirlenmesidir. Bu çalışma kapsamında çiğ balık örnekleri Bursa, İstanbul ve Çanakkale balık pazarlarından, işlenmiş deniz ürünleri örnekleri ise süpermarket ve şarküterilerden temin edilmiştir. Çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilip tanımlanmış olan enterokok izolatlarının *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *E. faecalis*, *E. faecium* referans bakteri suşlarına ve izolatlar arasından seçilen enterokok suşlarına karşı gösterdikleri antimikrobiyel aktivite potansiyelleri agar damlatma yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında elde edilen verilere göre ülkemizde avlanan ve işlenen su ürünlerinden izole edilen 12 adet enterokok izolatında *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *E. faecalis* ve *E. faecium*'a karşı 1,5 cm ve üzerinde zon çapına sahip antimikrobiyel aktivite potansiyeli tespit edilmiştir. Sarıkanat kaynaklı *E. gallinarum* ve sardalye kaynaklı *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* izolatlarında *L. monocytogenes*'e karşı 3,2-3,8 cm zon çapına sahip antimikrobiyel etki belirlenmiştir. Bu veriler, su ürünü kaynaklı enterokok izolatlarının gıda endüstrisinde koruyucu kültür olarak kullanım potansiyeli olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Su ürünleri, *Enterococcus* spp., antimikrobiyel aktivite
2020, ix + 84 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY POTENTIAL OF ENTEROCOCCI ISOLATES FROM SEAFOOD

Gözde SOYSAL

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sine OZMEN TOGAY

The aim of this study was to determine the antimicrobial activity potential of *Enterococcus* strains isolated from raw and processed seafood. In the study, raw fish samples that were obtained from fish markets in Bursa, Istanbul and Canakkale and processed seafood samples were obtained from supermarkets and delicatessens. Antimicrobial activity potentials of enterococci which isolated and identified from raw and processed seafood, against *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *E. faecalis*, *E. faecium* reference bacteria strains and *Enterococcus* strains selected from isolates were determined by the spot on lawn method. The antimicrobial activity potential which had more than 1,5 cm zone diameter against *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *E. faecalis* and *E. faecium* has been determined in 12 of enterococcal strains isolated from hunted and processed seafood in our country. It was determined that *E. gallinarum* isolate from Mediterranean horse mackerel, *E. gallinarum* and *E. casseliflavus* isolates from sardine showed antimicrobial activity against *L. monocytogenes* between 3,2-3,8 cm zone diameters. These data were supposed that the enterococcal isolates from seafood may have using potential as protective culture in food industry.

Key words: Seafood, *Enterococcus* spp., antimicrobial activity
2020, ix + 84 pages.

TEŞEKKÜR

“Su Ürünü Kaynaklı Enterokok İzolatlarının Antimikrobiyel Aktivite Potansiyelinin Belirlenmesi” konulu yüksek lisans tezimin her aşamasında sevgi, yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY’a,

İzolatların bakteriyosin üretim potansiyelinin belirlenmesi çalışmalarında verdiği destek için Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ufuk BAĞCI’ya,

İzolatların bakteriyosin taşıma genlerinin analizinde verdiği destek için Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mustafa AY’a,

Bu çalışmayı, ‘2150374’ numaralı “Çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilen enterokokların gıda güvenliği ve bakteriyosin üretim potansiyeli yönüyle değerlendirilmesi” başlıklı proje kapsamında destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)’na,

Hayatımın her döneminde desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen değerli ailem; eşim Sezgin BAĞANA’ya, babam Nurettin DUYMAZ’a, annem Ayşen DUYMAZ’a, kardeşim Yağmur DUYMAZ’a ve oğlum Toprak Uras BAĞANA’ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Gözde SOYSAL
21/02/2020

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Su Ürünleri.....	4
2.1.1. Su ürünleri tanımı ve beslenme yönünden önemi.....	4
2.1.2. Su ürünleri mikrobiyotası.....	5
2.1.3. Su ürünleri ile ilgili antimikrobiyel aktivite çalışmaları.....	7
2.2. Laktik Asit Bakterileri ve Bakteriyosinler.....	10
2.2.1. Bakteriyosinlerin sınıflandırılması.....	13
2.2.2. Bakteriyosinlerin biyosentezleri.....	18
2.2.3. Bakteriyosinlerin antimikrobiyel etki mekanizmaları.....	20
2.2.4. Bakteriyosinlerin antimikrobiyel etki spektrumları.....	22
2.2.5. Bakteriyosinlerin üretimi, antimikrobiyel aktiviteleri ve stabilitelelerini etkileyen faktörler.....	23
2.2.6. Bakteriyosinlerin saflaştırılmaları.....	26
2.2.7. Bakteriyosinlerin kullanım alanları.....	26
2.3. Bakteriyosinlere Direnç Mekanizması.....	30
2.4. Enterokokların Genel Özellikleri.....	31
2.5. Enterosinler.....	34
2.5.1. Enterosin A.....	37
2.5.2. Enterosin B.....	38
2.5.3. Enterosin C.....	38
2.5.4. Enterosin P.....	39
2.5.5. Enterosin L50.....	39
2.5.6. Enterosin I.....	40
2.5.7. Enterosin 1071.....	40
2.5.8. Enterosin FH 99.....	41
2.5.9. Enterokoksin EFS2.....	41
2.5.10. Enterosin HJ35.....	41
2.5.11. Enterosin LM-2.....	42
2.5.12. Enterosin HZ.....	42
2.5.13. Enterosin EFS100.....	42
2.5.14. Enterosin KP.....	43
2.5.15. Enterosin M.....	43
2.5.16. Enterosin MC13.....	44
2.5.17. Enterosin RJ-11.....	44
2.5.18. Enterosin CRL35.....	45
2.5.19. Enterosin ON-157.....	45
2.5.20. Enterosin T.....	46
2.5.21. Enterosin TW21.....	46
2.5.22. Enterosin Q.....	46

	Sayfa
2.5.23. Sitolisin	47
2.5.24. Enterosin W	47
2.5.25. Enterosin 96	47
2.5.26. Enterosin 416K1	48
2.5.27. Bakteriyosin ST5Ha	48
2.5.28. Bakteriyosin ST15.....	48
2.5.29. Bakteriyosin T8.....	49
2.5.30. Bakteriyosin GM-1.....	49
2.5.31. Enterosin 62-6	49
2.5.32. Enterosin 81	50
2.5.33. Enterosin 1146	50
2.5.34. Enterosin AS-48	50
3. MATERYAL VE YÖNTEM	52
3.1. Materyal	52
3.1.1. Enterokok izolatları.....	52
3.1.2. Referans suşlar	52
3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanması.....	52
3.1.3.1. Brain heart infusion broth	53
3.1.3.2. Brain heart infusion agar.....	53
3.1.3.3. De man rogosa sharpe broth.....	53
3.1.3.4. Gliserol.....	53
3.1.3.5. 6N HCl ve 6N NaOH	53
3.2. Yöntem.....	54
3.2.1. İzolatların antimikrobiyel aktivite potansiyellerinin belirlenmesi	54
3.2.1.1. Düşük pH'ın izolatların antimikrobiyel aktivitesinden sorumlu olup olmadığının belirlenmesi.....	55
3.2.1.2. Hidrojen peroksit varlığının izolatların antimikrobiyel aktivitesinden sorumlu olup olmadığının belirlenmesi	55
3.2.1.3. Protein yapıdaki maddelerin izolatların antimikrobiyel aktivitesinden sorumlu olup olmadığının belirlenmesi	56
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	57
4.1. İzolatların Antimikrobiyel Aktivite Potansiyelleri	57
5. SONUÇ.....	70
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ	84

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler Açıklama

%	Yüzde
°C	Celcius
α	Alfa
β	Beta
ω	Omega

Kısaltmalar Açıklama

ABC	ATP-Binding Cassette
ATP	Adenozin Tri Fosfat
AU	Arbitrary Unit
bç	Baz çifti
BHIA	Brain Heart Infusion agar
BHIB	Brain Heart Infusion broth
Da	Dalton
Dha	Dehidroalanin
DHA	Dokosahekzaenoik asit
Dhb	Dehidrobütirin
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EPA	Eikosapentaenoik asit
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
g.	Gram
GRAS	Genel olarak güvenilir kabul edilen
IU	International Unit
Kb	Kilobaz
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
L	Litre
LAB	Laktik asit bakterileri
Lan	Lantibiyotik
MeLan	β -metillantiyonin
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
mL	Mililitre
MRSB	De Man Rogosa Sharpe broth
mV	Milivolt
nm	Nanometre
PAI	Patojenite adası
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribo Nükleik asit
rpm	Dakikadaki devir sayısı

Kısaltmalar	Açıklama
spp.	Tür
subsp.	Alt tür
TBA	Tiyobarbitürik asit
TVB-N	Toplam Uçucu Bazik Azot
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Bakteriyosinlerin kabul gören sınıflandırma sistematığı	17
Şekil 2.2. Bakteriyosinlerin regülasyonu ve biyosentezleri	19
Şekil 2.3. Barrel-Stave mekanizması ile por oluşumu	21
Şekil 2.4. Wedge-Model ile por oluşumu	21
Şekil 2.5. Lipit II modeli ile por oluşumu	22
Şekil 2.6. Enterosin RJ-11, Enterosin L50A ve Enterosin L50B'nin amino asit dizilimlerinin karşılaştırılması	45



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Tatlı su ve deniz balıklarının deri, solungaç ve bağırsak mikrobiyotası	6
Çizelge 2.2. Bakteriyosinler ve üretici mikroorganizmalar	16
Çizelge 2.3. Bakteriyosinlerin gıdalarda kullanımlarına örnekler	28
Çizelge 2.3. Bakteriyosinlerin gıdalarda kullanımlarına örnekler (devamı).....	29
Çizelge 2.4. Gıdalarda enterokokların ekolojisi	33
Çizelge 2.5. Enterokoklar tarafından üretilen sınıf I, sınıf II ve sınıf III bakteriyosinleri (enterosinler)	35
Çizelge 2.6. Farklı kaynaklardan izole edilen bakteriyosin üreticisi <i>Enterococcus</i> suşları	36
Çizelge 4.1. Enterokok izolatlarının elde edildiği kaynaklar ve ait olduğu türler	61
Çizelge 4.2. Enterokok izolatlarının bazı test bakterilerine karşı antimikrobiyel aktivite zon çapları (cm).....	62
Çizelge 4.3. Enterokok izolatlarının bazı test bakterilerine karşı antimikrobiyel aktivite zon çapları (cm)(devamı)	63
Çizelge 4.4. Enterokok izolatlarının bazı test bakterilerine karşı antimikrobiyel aktivite zon çapları (cm)(devamı)	64
Çizelge 4.5. Test suşlarının <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644'e karşı antimikrobiyel aktivitesi üzerine katalaz, proteinaz K ve tripsinin etkisi	66
Çizelge 4.6. İzolatlarda <i>entA</i> ve/veya <i>entB</i> genlerinin bulunma durumu.....	68

1. GİRİŞ

Enterokoklar, sağlıklı insan ve hayvanların bağırsak mikrobiyotasında doğal olarak bulunan bakteriler olup olumsuz çevre koşullarını tolere etme yetenekleri ve fekal kaynaklardan yayılmalarının bir sonucu olarak, topraktan, gıdalardan, su ve bitkilerden izole edilmektedirler (Foulquie Moreno ve ark. 2006, Cariolato ve ark. 2008, Ogier ve Serror 2008, Lopez ve ark. 2009, Çetinkaya ve Elal Muş 2010). Enterokoklar sucul ortamlardan, balıkların deri, solungaç ve bağırsaklarından, kabuklu deniz ürünlerinden izole edilmekte ve tuz konsantrasyonu yüksek ortamlara gösterdikleri tolerans nedeniyle deniz kıyılarında uzun süre canlı kalabilmektedir (Harwood ve ark. 2000, Valenzuela ve ark. 2010, Hammad ve ark. 2015). Ayrıca gastrointestinal sistem kökenli olmalarından dolayı fekal kontaminasyon indikatörü ve sanitasyon indeksi olarak da değerlendirilmektedirler (Çetinkaya ve Elal Muş 2010, Keeratipibul ve ark. 2010).

Günümüzde uzun raf ömrümlü gıdaların üretim süreçlerine olan ilgi giderek artış göstermektedir. Gıda sektörü açısından değerlendirildiğinde sürdürülebilir yöntemler ile seri üretime uygun, uzun raf ömürlü ve besin değeri yüksek ürünlerin üretilmesi temel hedefler arasında yer almakta ve bu süreçte gıdalara çeşitli kimyasal katkı maddelerinin ilavesi ile raf ömrünün uzatılması mümkün olduğunca tercih edilmemektedir. Bununla birlikte tüketicilerinde kimyasal katkı içermeyen, sağlıklı ve geleneksel yöntemler ile üretilen doğal ürünlere olan ilgisi gün geçtikte artmaktadır (İşleroğlu 2006, Dinçer ve ark. 2010). Gıda endüstrisinde modern teknolojinin kullanılıyor olmasına rağmen, gıdaların korunması konusu hem gelişmekte olan ülkeler hem de gelişmiş ülkeler için önemli bir sorun oluşturmaktadır. Gıda endüstrisinin ana hedefleri arasında; gıda güvenliğinin sağlanması, gıda bozulmalarından kaynaklanan ekonomik ve endüstriyel kayıpların azaltılması, gıda işleme maliyetinin düşürülmesi, tüketici beklentilerini karşılayabilecek, tüketime hazır, besin değeri yüksek, taze, az işlem görmüş ve yasal sınırlar içerisinde kimyasal koruyucu içeren gıdaların üretilmesi yer almaktadır (Koral 2011, Uludağ 2015). Güvenilir gıda üretimi ve tüketiminin uluslararası boyutta önem kazanması doğal gıda koruyucularının araştırılmasına ve sektörde yer edinmesine dair çalışmalara hız kazandırmıştır (Soomro ve ark. 2002, Dinçer ve ark. 2010). Günümüzde doğal, kaliteli ve besin değeri maksimum düzeyde korunmuş hazır gıdalara olan taleplerin artmasından

dolayı biyokoruma en çok araştırılan yeni muhafaza tekniklerinden biri haline gelmiştir (Serdaroğlu ve Sapancı Özsümer 2000, Bilgin 2008).

Biyokoruma yöntemi, antimikrobiyel özelliğe sahip starter kültür veya bu kültürlerin ürettikleri metabolitlerin ürüne ilavesi ile gerçekleşmektedir. Üründe, gıda güvenliğini sağlamak amacıyla bozulmalara neden olan patojen mikroorganizmaların kontrolü son derece önemlidir (Serdaroğlu ve Sapancı Özsümer 2000, İşleroğlu 2006, Uludağ 2015, Yangılar 2015). Biyokoruma yöntemi çerçevesinde ürüne ilave edilen kültürler veya bu kültürlerin antimikrobiyel metabolitleri patojen bakterilere karşı inhibitör etki göstererek raf ömrü uzun gıdaların üretilmesine olanak sağlamaktadır. Bu kültürler koruyucu kültürler olarak adlandırılmaktadır. Koruyucu kültürler, üründe istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini önleme yeteneğine ve istenilen tekstür ve aromaya katkısına göre seçilmektedirler. Bunun yanında bu kültürlerin muhafaza süresi boyunca ürünün duyuşal özellikleri üzerine olumsuz etkide bulunmaması istenmektedir. Aynı zamanda, ürettikleri organik asitler, alkoller, karbondioksit, hidrojen peroksit, bakteriyosin, diasetil, reuterin ve reutersiklin gibi bileşikler sayesinde üründe gelişmesi istenmeyen bakterilere karşı bakterisidal veya bakteriyostatik etki göstermelidirler (İşleroğlu 2006, Kesenkaş ve ark. 2006, Yangılar 2015). Antimikrobiyel etkiye sahip mikroorganizmalar ve bunların ürettikleri metabolitler “doğal koruyucu” maddeler olarak adlandırılmakta ve gıdaların doğal yolla korunmasına katkıda bulunabilmektedirler (Abee ve ark. 1995, Stiles 1996, Gürsel ve ark. 2004, Şenel ve ark. 2006).

Gıdaların korunmasında bakteriyosin adı verilen laktik asit bakterileri tarafından üretilen antimikrobiyel metabolitler de kullanılmaktadır (De Martinis ve ark. 2002, Kurt ve Zorba 2005). İnsan ve hayvanların bağırsaklarında kolayca sindirilmeleri ve gıdaların yapışal özelliklerinde değişime neden olmadan bozulma ve hastalık etmeni bakterilere karşı göstermiş oldukları inhibitör etki ile bakteriyosinler özellikle son yıllarda üzerinde çok fazla çalışılan bir konu haline gelmiştir (Bilgin 2008, Yıldırım ve ark. 2017). Laktik asit bakterileri, Gram pozitif bakterileri kapsayan etki spektrumuna sahip bakteriyosinler üretmektedir (Alvarez Cisneros ve ark. 2010). Enterokokların ürettikleri bakteriyosinler ise enterosin olarak isimlendirilmektedir. Enterosinler, et ürünlerinde *Listeria monocytogenes* gibi patojenlerin gelişiminin ve laktik asit bakterileri tarafından üründe

yapışkan tabaka oluşumunun önlenmesinde kimyasal koruyuculara alternatif olarak kullanılabilir (Hugas ve ark. 2003). *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* gibi bazı enterokok suşları *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium* spp. gibi patojen bakterilere karşı etkili bakteriyosinler üretmektedirler (Strompfova ve ark. 2008, Valenzuela ve ark. 2009, Çetinkaya ve Elal Muş 2010). Çeşitli su ürünlerinden izole edilen bakteriyosin üreticisi enterokok suşlarının *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *B. cereus*, *Lactobacillus* spp., *Carnobacterium* spp., *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum*'a karşı inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir (Chahad ve ark. 2012, Migaw ve ark. 2014). Antibiyotik dirençliliği ve biyojen amin üretimi gibi özelliklere sahip olmayan su ürünlerinden izole edilen bakteriyosin üreten enterokoklar veya ürettikleri bakteriyosinler su ürünlerinin ve diğer gıdaların korunmasında kullanılabilir (Valenzuela ve ark. 2010).

Bu çalışmada, Marmara Bölgesi'nde günlük olarak avlanmış ekonomik öneme sahip taze balık (hamsi, istavrit, barbun, sardalye, sarıkanat, izmarit) ve hazır gıda olarak satışa sunulan (ançuez, lakerda) su ürünü örneklerinin mikrobiyotasında bulunan ve **2150374** nolu **TÜBİTAK** projesi kapsamında izole edilen ve tanımlanan enterokok izolatlarının antimikrobiyel aktivite potansiyelleri araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Su Ürünleri

2.1.1. Su ürünleri tanımı ve beslenme yönünden önemi

Su ürünleri, 1380 Sayılı Su Ürünleri Kanunu'nda "denizlerde ve iç sularda bulunan bitkiler ile hayvanlar ve bunların yumurtaları" olarak tanımlanmaktadır (Anonim 1971).

Su ürünlerinin insan beslenmesindeki yeri ve önemi tarih öncesi dönemlere kadar uzanmaktadır. Balık, protein içeriği açısından değerlendirildiğinde insan diyeti için önemli bir kaynaktır (Turan ve ark. 2006). Balık etinin dünya gıda üretimine katkısı %1'dir. Toplam hayvansal protein kaynağının %14'ü ve toplam protein üretiminin %5'ini balık oluşturmaktadır. Balığın, dünyayı tehdit eden açlık sorununa karşı ve insan sağlığına olumlu etkilerinden dolayı gelecekte daha çok talep edilecek bir besin olması muhtemeldir (Kaya ve ark. 2004, Yüksel 2018).

Balıkların kimyasal yapısı, mevsim değişikliklerine, balığın türüne, yaşına, cinsiyetine ve yaşama ortamına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. İnsan beslenmesinde önemli role sahip olan proteinlerin balık etindeki miktarı birçok parametreye bağlı olarak değişmekte olup balığın yenilebilir kısmının her 100 gramında 18-22 g arasında bulunmaktadır (Dean 1990, Turan ve ark. 2006). Balık proteinleri, vücudumuz için elzem olan tüm esansiyel amino asitleri içermektedir. Balık eti, tavuk eti ve kırmızı ette bulunan kıkırdak ve sinirleri içermemesi nedeniyle kolay sindirilmektedir. Balıklar, vitamince zengin gıdalar arasında bulunmaktadır. Vitaminlerin dokulardaki dağılımı düzensiz olup vitamin miktarı balığın türüne ve içinde yaşadığı ortama göre değişkenlik göstermektedir. A, D, E ve K vitaminlerinin su ürünlerinde kara hayvanlarına göre daha fazla bulunduğu bilinmektedir (Turan ve ark. 2006). Mineraller insan vücut ağırlığının yaklaşık %4'ünü oluşturmaktadır. Magnezyum, çinko, iyot, flor, potasyum, sodyum, kalsiyum, demir, fosfor, bakır ve kobalt mineralleri su ürünlerinde değişken miktarlarda bulunmaktadır (Dean 1990).

Balık ve diğere su ürünleri çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) bakımından zengindir. PUFA'lar omega ω -3, omega ω -6 yağ asitleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. ω -6 yağ asitleri soya fasulyesi ve mısır yağında, ω -3 yağ asitleri ise ceviz, keten tohumu, planktonlar ve yağlı balıklarda bol miktarda bulunmaktadır. Keten tohumu ve cevizde α -linolenik asit, balık yağlarında ise Eikosapentaenoik asit (EPA) ve Dokosaheksaenoik asit (DHA) en önemli yağ asitleridir. Vücut tarafından sentezlenemediğinden dolayı EPA ve DHA'nın gıdalarla temin edilmesi gerekmektedir. Yağ miktarı balıklarda % 1-20 aralığında değişen miktarlarda, kabuklu deniz ürünlerinde ise %1'den az bulunmaktadır. Su ürünlerinde bulunan EPA ve DHA yağ asitlerinin kalp ve damar hastalıkları, romatizmal hastalıklar, diyabet, depresyon, kolesterol, migren, tansiyon, alerjik hastalıklar ve kanser gibi birçok hastalıktan korunmada önemli etkisi olduğu tespit edilmiştir (Kaya ve ark. 2004). Ayrıca üreme, görme ve sinir sistemi üzerinde PUFA'ların önemli bir rolü vardır (Sidhu 2003).

2.1.2. Su ürünleri mikrobiyotası

Su ürünlerinin bozulmasına otolitik, oksidatif ve bakteriyel etkiler neden olmaktadır (Varlık 1994). Bakteriyel faaliyet, balıklardaki en temel bozulma nedenidir. Balıkların deri, solungaç, mide ve bağırsaklarında milyonlarca mikroorganizma bulunduğu bilinmektedir. Bakteriler avlanma sonrası kan damarları vasıtası ile solungaçlardan ve karın bölgesinden balık etine nüfuz ederek balığın bozulmasına sebep olurlar (Serdaroğlu ve Deniz 2001).

Canlı balığın mikrobiyotası, içinde bulunduğu suyun bakteriyel içeriğine bağlı değişkenlik gösterir. Balığın avlandığı suyun kirlilik miktarı, sıcaklığı, balığın avlanma şekli ve avlanmadan sonra balığa yapılan işlemler mikrobiyal kontaminasyon açısından önem taşımaktadır (Çaklı ve Kışla 2003, Aras Hisar ve ark. 2004, Yaman ve Esendal 2004). Mikroorganizmalar genellikle balığın dış yüzeyinde deri ve solungaçlarında, iç bölgede ise gastrointestinal sisteminde bulunmaktadır. Soğuk sularında yaşayan balıkların derisinde *Acinetobacter*, *Psychrobacter*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium* ve *Shewanella*, ılık sularında yaşayanların derisinde ise *Micrococcus*, *Corynebacterium* ve *Bacillus* spp. bulunmaktadır. Deniz sularında yüksek tuz konsantrasyonlarını tolere

edebilen ve gelişimleri için sodyuma gereksinim duyan halofilik *Photobacterium*, *Vibrio* ve *Shewanella putrefaciens* gibi Gram negatif bakteriler, tatlı sularda ise *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus* ve *Corynebacterium* spp. bulunmaktadır (Çaklı ve Kışla 2003, Aras Hisar ve ark. 2004). Tatlı su ve deniz balıklarının deri, solungaç ve bağırsaklarından izole edilen bazı bakteriler Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Tatlı su ve deniz balıklarının deri, solungaç ve bağırsak mikrobiyotası (Yaman ve Esendal 2004)

Deniz balıklarının deri mikrobiyotası	Deniz balıklarının solungaç mikrobiyotası	Tatlı su balıklarının deri mikrobiyotası	Tatlı su balıklarının bağırsak mikrobiyotası
<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Achromobacter</i> spp.	<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Acinetobacter</i> spp.
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Alcaligenes</i> spp.	<i>Alcaligenes</i> spp.	<i>Aeromonas</i> spp.
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter</i> spp.
<i>Bacillus firmus</i>	<i>Flavobacterium</i> spp.	<i>Flexibacter</i> spp.	<i>Escherichia coli</i>
<i>Coryneform</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Flexibacter</i> spp.
<i>Escherichia coli</i>		<i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Klebsiella</i> spp.
<i>Hyphomicrobium vulgare</i>			<i>Proteus</i> spp.
<i>Lucibacterium harveyi</i>			<i>Pseudomonas</i> spp.
<i>Pseudomonas fluorescens</i>			<i>Serratia</i> spp.
<i>Pseudomonas marina</i>			
<i>Photobacterium angustum</i>			
<i>Vibrio</i> spp.			

İstiridyeler ve diğer kabuklular toprak ve suda bulunan mikroorganizmaları bünyelerine suyu süzerek almaktadır. Karides, ıstakoz, yengeç gibi kabuklu su ürünlerinin mikrobiyal biyotası balıkların mikrobiyal biyotasıyla benzerlik göstermektedir. Örneğin karideste,

Achromobacter, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Proteus* ve *Pseudomonas* cinslerine ait türlerin bulunduğu yapılan çalışmalar sonucunda saptanmıştır (Çaklı ve Kışla 2003). İstiridye ve midye gibi fermente olmayan kabuklu su ürünlerinden *Enterococcus* spp. ve taze balıkların iç organlarından *Enterococcus durans*, *E. faecium* ve *Lactococcus lactis*'in izole edildiği çalışmalar bulunmaktadır (Pinto ve ark. 2009, Migaw ve ark. 2014). Ayrıca yüksek tuz konsantrasyonlarına toleransları sonucu deniz kıyılarında uzun süre canlılığını koruyabilen *E. faecalis* ve *E. faecium*'un işlenmiş ve çiğ su ürünlerinden izole edildiği bilinmektedir (Françoise 2010, Valenzuela ve ark. 2010). Ek olarak, Japon çiğ balıklarından *E. faecium*, *E. faecalis*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus phoeniculicola*, *Enterococcus saccharolyticus*, *Enterococcus raffinosus* ve *Enterococcus gilvus* türlerinin (Hammad ve ark. 2014), Tunus'daki su ürünlerinden ise *Enterococcus mundtii*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. casseliflavus*, *Enterococcus hirae* ve *E. gallinarum* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir (Ben Said ve ark. 2017). Gıda zehirlenmelerine sebep olan patojen bakterilere temiz sularda genellikle rastlanmamaktadır. Ancak bu bakterileri içinde barındıran kirli sulardan avlanan su ürünleri bu patojenlerle kontamine olmaktadır. *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio mimicus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *A. hydrophila*, *L. monocytogenes*, *Clostridium botulinum* E tipi ve *S. aureus* balıklarda ve diğer su ürünlerinde rastlanan patojen mikroorganizmalardır (Çaklı ve Kışla 2003, Aras Hisar ve ark. 2004).

2.1.3. Su ürünleri ile ilgili antimikrobiyel aktivite çalışmaları

Su ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin ve bunların ürettiği antimikrobiyel metabolitlerin su ürünlerinde ve diğer gıdalarda biyokoruyucu olarak kullanımı her geçen gün daha da önem kazanmakta ve araştırmalara konu olmaktadır. Çeşitli su ürünlerinden izole edilen bakteriyosin üreticisi enterokok suşlarının *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *Clostridium* spp., *Lactobacillus* spp., *Carnobacterium* spp., *B. cereus*, *S. aureus*, *A. salmonicida*, *A. hydrophila* ve *V. anguillarum* gibi bakterilere karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir (Valenzuela ve ark. 2010, Chahad ve ark. 2012, Migaw ve ark. 2014). Ayrıca su ürünlerinde esansiyel uçucu

yağların kullanıldığı antimikrobiyel aktivite çalışmaları da bulunmaktadır (Ekici ve ark. 2011, Rahimabadi ve ark. 2012, Heydari ve ark. 2015, Mutlu ve Bilgin 2016).

Pişmemiş su ürünlerinden izole edilen *E. faecium* türlerinin antimikrobiyel aktivitesinin incelendiği çalışmada, izolatların *Enterococcus* spp., *S. aureus* ve *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği saptanmıştır (Valenzuela ve ark. 2010).

Taze balıkların iç organlarından izole edilen ve bakteriyosin benzeri aktivite gösteren laktik asit bakteri suşlarının *Lc. lactis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Listeria ivanovii*, *Listeria innocua*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida pseudotropicalis*'e karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Migaw ve ark. 2014).

Zataria multiflora boiss esansiyel yağı ve nisinin gökkuşacağı alabalığı filetolarının raf ömrü üzerine olan etkisi incelenmiştir. Esansiyel yağ ve nisini birlikte içeren gruplar raf ömrünü 12 güne uzatırken, raf ömrü kontrol grubunda 9 gün olarak belirlenmiştir (Rahimabadi ve ark. 2012).

Schelegueda ve ark. (2012), balığın mikrobiyal biyotası üzerine potasyum sorbat, nisin, sodyum laktat ve kitosanın etkilerini incelemiştir. Çalışma sonucunda nisinin Gram pozitif bakteriler üzerinde inhibitör etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Gui ve ark. (2014), paraplantarisinin gökkuşacağı alabalıkları üzerine etkisini incelemiştir. Bu araştırma sonucunda paraplantarisinin *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae* ve spor oluşturan bakterilere karşı inhibitör etkili olduğu belirlenmiştir.

Gao ve ark. (2014), pompano balığı üzerine nisin ve biberiye ekstraktının kombine etkisini incelemiştir. Yapılan çalışma sonucunda raf ömrü 4°C'de depolanan balık filetolarında 6 gün uzamıştır.

4 °C'de depolanan vakum paketli gökkuşacağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) üzerine nisin etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda nisin ile muamele edilen balıklar kontrol

grubuyla karşılaştırıldığında raf ömrünün 4 gün daha uzadığı ve üründe kalite özelliklerinin korunduğu belirlenmiştir (Behnam ve ark. 2015).

Shamloofar ve ark. (2015) taze alabalık filetolarının, çeşitli konsantrasyonlarda nisinle muamele sonrası modifiye atmosferde $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 20 günlük muhafaza koşullarında nisinin filetolar üzerine etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda, nisinin laktik asit bakterileri üzerine antimikrobiyel etkisinin olduğu rapor edilmiştir.

Mutlu ve Bilgin (2016) yağ gülü ve zeytin yaprağı ekstraktlarının $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen sıcak dumanlanmış alabalık filetoları üzerine etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda kontrol grubunda raf ömrü 21 gün, zeytin yaprağı ekstraktlı grubun raf ömrü 42 gün, kombine ve yağ gülü ekstraktlı grubun raf ömrü ise 28 gün olarak tespit edilmiştir.

Heydari ve ark. (2015) yabani nane (*Mentha longifolia*) yağı ile zenginleştirilmiş sodyum aljinat kaplamasının 4°C 'de depolanan sazan filetoları üzerine etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda kaplamanın filetoların bozulma sürecini geciktirdiği, TBA (tiyobarbitürik asit), peroksit ve TVB-N (Toplam Uçucu Bazik Azot) değerlerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Adilla ve ark. (2017) nisinin çeşitli konsantrasyonlarının panga filetoları üzerine etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda, 4°C 'de 16 gün boyunca depolanan örneklerde nisin konsantrasyonuna bağlı olarak raf ömrünün uzadığı, tüm örneklerdeki toplam canlı bakteri ve TVB-N sayısının azaldığı belirlenmiştir.

Ju ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada trakonya balığı (*Lateolabrax japonicus*) nisin ve çay polifenollerini ile birlikte depolanmıştır. Çalışma sonucunda, mikrobiyal gelişmenin durduğu, balığın duyuşal ve fizikokimyasal özelliklerinin iyileştiği görülmüştür (Ju ve ark. 2017).

Sofra ve ark. (2018), nisin ilavesi ile zenginleştirilmiş ozmotik çözeltilerin 5°C 'de muhafaza edilen vakum paketli ton balıkları üzerine etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda, ton balıklarında raf ömrünün 41 gün uzadığı belirlenmiştir.

Kekik, melisa, karabaş, biberiye ve zencefil bitkisel uçucu yağlarının *in vitro* ortamda balıkların mikrobiyotasında bulunan bakterilerden; *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *A. hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *V. anguillarum* ve *Vibrio alginolyticus* üzerinde antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, melisa ve kekik yağlarının diğer yağlara göre daha güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Ekici ve ark. 2011).

Jeon ve ark. (2001) Gram negatif bakteriler ile karşılaştırıldığında kitosanın Gram pozitif bakteriler üzerine daha etkili inhibisyon oluşturduğunu bildirmiştir. *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Typhi gibi bakteriler için Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri % 0,1'in altında bulunmuş, aynı değer *Pseudomonas aeruginosa* için % 0,25 olarak belirlenmiştir.

2.2. Laktik Asit Bakterileri ve Bakteriyosinler

Bir grup olarak laktik asit bakterileri (LAB)'nin ilk tanımı, koliform bakterileri de kapsayan, sütü fermente ve koagüle etme yeteneklerine dayandırılmıştır. LAB, Gram pozitif, çubuk ve kok şeklinde, hareketsiz, spor oluşturmeyen, homofermentatif bir gruptur. Gıda ile ilişkili LAB, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Weissella*, *Tetragenococcus* ve *Vagococcus* gibi cinslerin türlerini kapsamaktadır (Stiles ve Holzapfel 1997, İşleroğlu 2006).

Laktik asit bakterileri (LAB) "food-grade" organizmalar olarak kabul edilmekte ve gıda endüstrisinde özellikle fermente gıdaların üretiminde önemli rol oynamaktadır. Fermente gıdaların tat, aroma, tekstür ve görünüşlerinde önemli katkılarda buldukları gibi depolama stabilitelelerinin de artmasına neden olmaktadır (İşleroğlu 2006, Bilgin 2008, Uludağ 2015). Bu bakterilerin ürettiği organik asitler, hidrojen peroksit, asetoin, diasetil, reuterin, asetaldehit, hidrojen sülfür, karbondioksit, antifungal peptitler, alkol ve bakteriyosinler sayesinde patojen mikroorganizmaların kontrolü sağlanabilmektedir (Lyon ve Glatz 1991, Piard ve Desmazeaud 1991, Gürsel ve ark. 2004, İşleroğlu 2006,

Kesenaş ve ark. 2006, Şenel ve ark. 2006, Bilgin 2008, Nalvuran 2013, Uludağ 2015, Yangılar 2015).

Laktik asit bakterilerinin bakteriyosin adı verilen antimikrobiyel madde ürettiği belirtilmektedir. Üretilen bakteriyosinler *B. cereus*, *S. aureus*, *Clostridium perfringens* ve *Listeria spp.*, gibi patojen bakterilere ve bazı Gram negatif bakterilere karşı inhibitör etki göstermektedir (Lewus ve ark. 1991, Messi ve ark. 2001, Dinçer ve ark. 2010). Gram negatif bakteriler bakteriyosinlere karşı direnç göstermektedir. Bu direncin ortadan kalkması ancak EDTA gibi şelat ajanları ve ısıl işlem uygulamaları ile mümkün olmaktadır (Delves Broughton ve ark. 1996, Nalvuran 2013). Günümüzde tüketicilerin doğal, katkısız ve güvenilir gıdalara olan talepleri doğrultusunda biyokoruyucu olarak LAB'leri tarafından üretilen bakteriyosinlerin önemi artmıştır (Holtzel ve ark. 2000, Rössland ve ark. 2005, Bilgin 2008, Yıldırım ve ark. 2017).

LAB bakteriyosinlerinin, GRAS statüsünde olmaları, ökaryot hücreler üzerinde toksik etkili olmamaları, geniş pH aralıklarına ve sıcaklık uygulamalarına dirençli olmaları, bozulma ve hastalık etmeni patojen bakteriler üzerinde geniş spektrumda antimikrobiyel etkili olmaları gıdalarda koruyucu olarak kullanım alanı bulmalarının nedenleri arasındadır (Galvez ve ark. 2007, Dinçer ve ark. 2010).

Bakteriyosinler, ribozomal olarak mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, mikroorganizmalara karşı dar spektrumda inhibitör etki gösteren aktif protein yapısında maddelerdir (Lewus ve ark. 1991, Bruno ve Montville 1993, Serdaroğlu ve Sapancı Özsümer 2000, Bilgin 2008, Uymaz 2009, Dinçer ve ark. 2010, Yangılar 2015). Bakteriyosinlerin etki mekanizması, etki spektrumu, molekül ağırlıkları, biyokimyasal özellikleri ve genetik yapıları oldukça karmaşıktır (Dinçer ve ark. 2010, Abanoz 2014, Yangılar 2015). Bakteriyosin üreticisi bazı suşlar sadece bir bakteriyosin sentezlerken, bazı suşlar ise birden fazla (2 veya 3) bakteriyosin sentezlemektedir (Naidu ve ark. 1999, Parente ve Ricciardi 1999, Budde ve ark. 2003, Sezer 2007). Bakteriyosinler gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonunda, raf ömrü uzun gıdaların üretilmesinde, fermantasyonun kontrolünde ve mikrobiyolojik güvenilirliğin sağlanmasında rol alırlar (Foegeding ve ark. 1992, Serdaroğlu ve Sapancı Özsümer 2000).

Bakteriyosinlerin antimikrobiyel etkilerinin yanında, doğal olmaları, renklerinin, tatlarının ve kokularının olmaması ürünün özellikleri açısından önem taşımaktadır. Bakteriyosinlerin protein yapılı olması mide ve ince bağırsaklarda proteolitik enzimler tarafından parçalanmalarına sebep olmaktadır. Dolayısıyla vücut tarafından absorbe edilemezler ve kalın bağırsağa ulaşamazlar (Tagg ve ark. 1976, Holzapfel ve ark. 1995, İşleroğlu 2006, Demirci 2013, Nalvuran 2013, Uludağ 2015). Bakteriyosinler genellikle 30-60 amino asit kalıntısı içerirler ve ısıya dayanıklıdırlar. Bu özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde kullanım alanı bulmaktadırlar (Tagg ve ark. 1976, Bruno ve Montville 1993, Holzapfel ve ark. 1995, Serdaroğlu ve Sapancı Özsümer 2000, Sezer 2007, Demirci 2013, Nalvuran 2013, Yıldırım ve ark. 2017).

Bakteriyosinlerden doğal antibiyotikler olarak bahsedilmektedir. Bakteriyosinleri antibiyotiklerden ayıran temel kriter, antibiyotiklerin bakteriyosinlere göre daha geniş etki spektrumuna sahip olmaları ve bakteriyosinlerin sadece yakın akraba türler üzerinde antimikrobiyel etkiye sahip olmalarıdır (Riley ve Wertz 2002, Uymaz 2009, Demirci 2013).

Bakteriyosinler, protein yapılı olduklarından dolayı proteolitik enzimlere karşı duyarlıdır. Bakteriyosinlerin protein yapılarının ve karakterizasyonunun belirlenmesinde en çok yararlanılan uygulama pepsin, tripsin ve α -kimotripsin gibi enzimlerle hidroliz işlemidir. Ayrıca yüksek sıcaklık uygulamalarına gösterdikleri dayanıklılık ve geniş pH aralıklarında gösterdikleri aktivite karakterizasyonlarının belirlenmesinde dikkate alınan diğer hususlardır (Cleveland ve ark. 2001, Demirci 2013).

Bakteriyosinlerin gıdalara koruyucu olarak ilave edilmesi ile; gıdaların raf ömrü uzatılabilmekte, gıda kaynaklı patojenlerin yayılımı azaltılabilmekte, bakteriyel gıda bozulmalarının ekonomik ve endüstriyel kayıpları azaltılmakta, kimyasal koruyucu katkı maddelerinin kullanımları azaltılabilmekte, ürünün besinsel değeri ve organoleptik özellikleri muhafaza edilebilmektedir (Thomas ve Wimpenny 1996, Dinçer ve ark. 2010, Uludağ 2015, Yangılar 2015).

FDA (U.S. Food and Drug Administration – Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından GRAS (Generally Recognized as Safe – Genel olarak güvenilir kabul edilen) olarak tanımlanmış ve belgelendirilerek gıda katkı maddesi olarak kullanılmasına izin verilen ilk bakteriyosin *Lc. lactis* subsp. *lactis* tarafından sentezlenen nisindir (Şimşek ve ark. 2007). Günümüzde yaklaşık 50’den fazla ülkede sağlık açısından güvenli bir gıda koruyucusu olarak kabul edilmiştir ve birçok gıdada kullanılmaktadır (Cheen ve Hoover 2003, İşleroğlu 2006, Bilgin 2008).

2.2.1. Bakteriyosinlerin sınıflandırılması

LAB tarafından üretilen bakteriyosinler, aminoasit dizilimleri, biyolojik aktiviteleri, etki mekanizmaları, ısı toleransları, salgı mekanizmaları ve modifiye amino asit içerikleri göz önünde bulundurularak sınıflandırılmaktadır. Gram pozitif bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler Klaenhammer (1993) tarafından dört farklı grup altında sınıflandırılmıştır.

Sınıf I bakteriyosinler: Bu sınıfta yer alan bakteriyosin yapılarında lantiyonin bulduklarından dolayı lantibiyotikler olarak adlandırılmaktadır. Yapılarında bilinen amino asitlerden farklı olarak lantiyonin (Lan) ve β -metillantiyonin (MeLan) gibi tiyoeter amino asit türevlerini, dehidroalanin (Dha) ve dehidrobütirin (Dhb) gibi doymamış amino asitleri ve zincir içi sülfür köprülerini buldurmaktadır. Bu grup bakteriyosinler polisiklik yapıdadır (Twomey ve ark. 2002, Demirci 2013, Avcı 2015). İki farklı parçadan oluşan, ribozomlarda inaktif öncü peptitler olarak sentezlenen lantibiyotiklerin aktivite kazanmaları için translasyon sonrası amino ucunda bulunan lider peptit proteazlar vasıtasıyla uzaklaştırılmalıdır. Bu enzimatik reaksiyon lantibiyotiğin üretildiği hücrenin içinde, lantibiyotiğin hücre dışına transferi sırasında veya sonrasında gerçekleşmektedir (McAuliffe ve ark. 2001, Avcı 2015). Lantibiyotiklerin molekül ağırlıkları 5 kDa’dan düşüktür. Genellikle ısı uygulamalarına karşı direnç göstermektedirler (Twomey ve ark. 2002, Kurt ve Zorba 2005, Foulque Moreno ve ark. 2006, Avcı 2015, Uludağ 2015). Nisin, plantarisin C, laktisin 3147A ve 3147B bu gruba örnek verilebilir (Chen ve Hoover 2003, Gök Charyyev 2016). Bu gruptaki bakteriyosinler Ia (nisin-benzeri) ve Ib (duramisin-benzeri) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Avcı 2015, Gök Charyyev

2016). Sınıf Ia lantibiyotikler pozitif yüke sahip, doğrusal ve hidrofobik polipeptitlerdir. Ortalama olarak 21-38 amino asit kalıntısına sahiptirler. Bakterilerin hedef hücre membranlarında porlar oluşturup membran potansiyelini bozarak duyarlı bakterileri inhibe etmektedirler (Reunanen 2007, Akkoç ve ark. 2009, Avcı 2015, Uludağ 2015, Gök Charyyev 2016). Nisin bu alt grubun en önemli üyesidir ve gıdalarda bozulmaya neden olan bakterilere ve pek çok patojene karşı antimikrobiyel etki göstermektedir (Chen ve Hoover 2003, Deraz ve ark. 2005, Uludağ 2015). Sınıf Ib lantibiyotikler ise; yüksüz ve ya negatif yüklü globüler bakteriyosinlerdir. Büyüklükleri 19 amino asiti aşmamaktadır. Bakterilerin enzim sistemleri üzerine etki gösterirler. Mersasidin, sinnamisin, duramisin, aktagardin bu grup lantibiyotiklere örnek olarak verilebilir (Twomey ve ark. 2002, Chen ve Hoover 2003, Akkoç ve ark. 2009, Avcı 2015, Uludağ 2015).

Sınıf II bakteriyosinler: Translasyon sonrasında modifiye olmayan bakteriyosinleri içeren bu grubun üyeleri ısıya karşı direnç göstermektedir. Ayrıca, bu grup üyelerinden bazılarının 100-121°C'ye kadar olan sıcaklık uygulamalarına karşı dayanıklı olduğu bilinmektedir. Bu grup bakteriyosinlerin moleküler ağırlıkları 10 kDa'dan düşüktür. Antimikrobiyel aktiviteleri, membran aktif molekül yapısından kaynaklanmaktadır. Bu bakteriyosinler IIa, IIb ve IIc olmak üzere üç alt gruba ayrılmaktadır (De Martinis ve ark. 2002, Avcı 2015, Uludağ 2015, Gök Charyyev 2016). Sınıf IIa üyesi bakteriyosinler, pediosin benzeri bakteriyosinlerdir ve *Listeria* türlerine karşı inhibitör aktivite göstermektedirler. Bu grupta yer alan bakteriyosinler *Lactobacillus* ve *Enterococcus* suşlarına karşı da aktivite gösterirler. Güçlü antilisterial aktiviteye sahip olan enterosinler genellikle bu sınıfın üyesidir (Drider ve ark. 2006, Leroy ve De Vuyst 2010, Avcı 2015). Bakteriyosinin N-terminal ucunda YGNGVXC (Try-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys) amino asit dizisi yer almaktadır. Enterosin A, lökosin A, Pediosin PA-1 (AcH) ve sakasin P bu grubun bilinen üyeleridir (Nes ve ark. 1996, Ennahar ve ark. 2000, Chen ve Hoover 2003, Avcı 2015). Sınıf IIb bakteriyosinler, iki peptid içermekte ve tam aktivite gösterebilmek için iki peptid birlikte ihtiyaç duymaktadır. Bu gruptaki bazı önemli bakteriyosinler, enterosin L50A ve L50B, laktokoksin G ve M/N, plantarisin EF ve JK'dir (Kurt ve Zorba 2005, Akkoç ve ark. 2009, Uludağ 2015, Gök Charyyev 2016). Bir diğer alt grup ise sınıf IIc bakteriyosinleridir. Sınıf IIc üyesi bakteriyosinlerin birçoğu sistein kalıntısı içermektedir. Bu nedenle bu bakteriyosinlere tiolbiyotikler veya sistibiyotikler

denilmektedir. Bu bakteriyosinlerin aktivite göstermeleri için indirgenmiş sistein kalıntısına ihtiyaçları vardır. Bu gruba örnek olarak asidosin B, laktokoksin B ve enterosin AS-48 verilebilir (De Martinis ve ark. 2002, Alvarez Cisneroz ve ark. 2011, Avcı 2015).

Sınıf III bakteriyosinler: Isıya duyarlı olan ve bakteriyolizinler olarak da adlandırılan bu grup yeleri, 30 kDa ve üzeri molekül ağırlığına sahiptirler. Bu grup bakteriyosinlerin çoğunun *Lactobacillus* cinsi bakteriler tarafından sentezlendiği bilinmektedir. Helvetisin J, Helvetisin V-1829, enterolislin A, laktisin A ve laktisin B bu gruba ait bakteriyosinlerdir (Klaenhammer 1993, Chen ve Hoover 2003, Dinçer ve ark. 2010, Uludağ 2015, Gök Charyyev 2016).

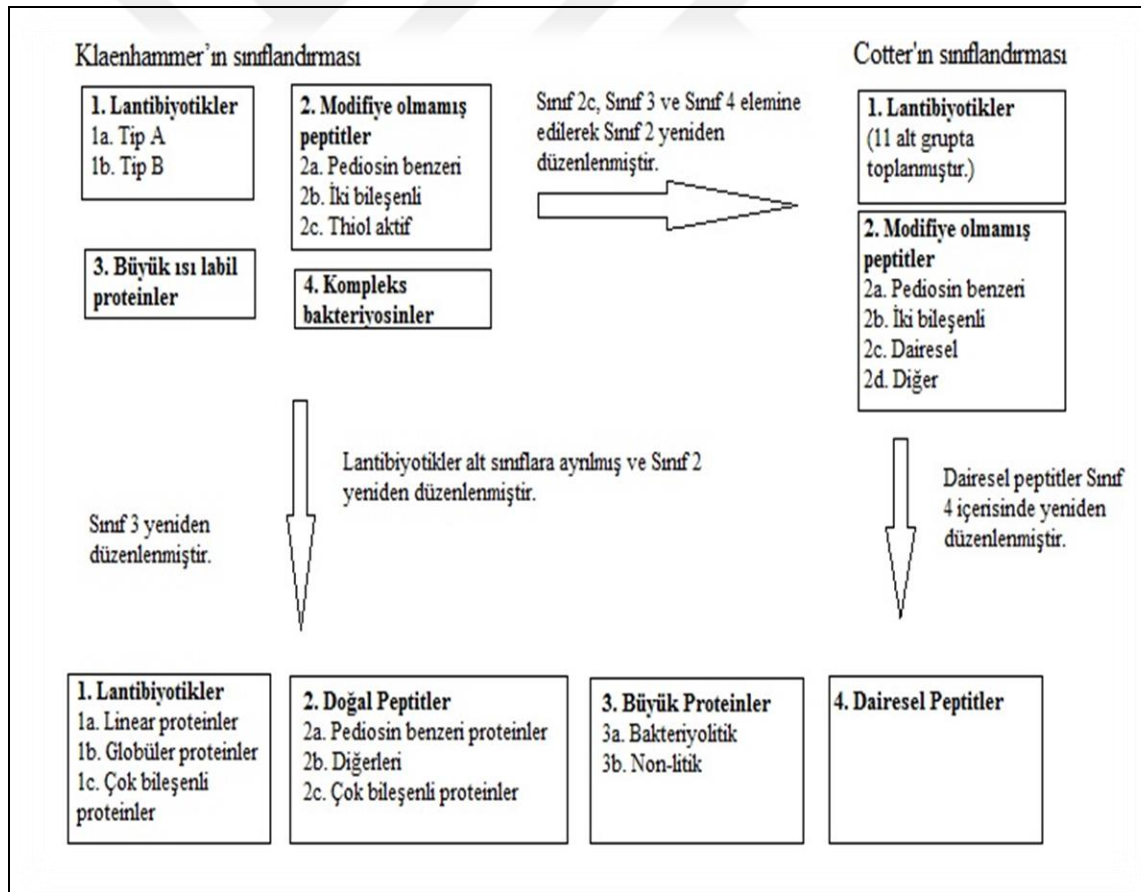
Sınıf IV bakteriyosinler: Bu gruba ait bakteriyosinler, büyük ve karmaşık moleküllerdir ve aktivite gösterebilmeleri için karbonhidrat ya da lipid yapıda bileşenlere ihtiyaç duymaktadırlar (Kurt ve Zorba 2005). Bu bakteriyosinler henüz tam olarak saflaştırılmamıştır. Plantarasin S, lakstrepsin, leukonosin S ve laktasin 27 bu grubun bazı üyeleridir (Klaenhammer 1993, Akkoç ve ark. 2009, Avcı 2015, Uludağ 2015, Gök Charyyev 2016).

Çizelge 2.2’de Sınıf I, Sınıf II ve Sınıf III bakteriyosinlere ve üretici mikroorganizmalara örnekler verilmiştir.

Çizelge 2.2. Bakteriyosinler ve üretici mikroorganizmalar (Chen ve Hoover 2003)

Bakteriyosin	Üretici Mikroorganizma
Sınıf IA	
Nisin	<i>Lc. lactis</i>
Laktosin S	<i>Lactobacillus sake</i>
Epidermin	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Gallidermin	<i>Staphylococcus gallinarum</i>
Laktisin 481	<i>Lc. lactis</i>
Sınıf IB	
Mersasidin	<i>B. subtilis</i>
Sinnamisin	<i>Streptomyces cinnamoneus</i>
Duramisin	<i>S. cinnamoneus</i>
Aktagardin	<i>Actinoplanes ssp.</i>
Sınıf IIA	
Pediosin PA-1/AcH	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Sakasin A ve Sakasin P	<i>Lb. sake</i>
Mesenterisin Y105	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Enterosin A	<i>E. faecium</i>
Sınıf IIB	
Laktokoksin G	<i>Lc. lactis</i>
Laktokoksin M	<i>Lc. lactis</i>
Laktasin F	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
Plantarisin S	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Sınıf IIC	
Asidosin B	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Karnobakteriosin A	<i>Carnobacterium piscicola</i>
Enterosin B ve Enterosin P	<i>E. faecium</i>
Sınıf III	
Helvetisin J	<i>Lactobacillus helveticus</i>
Helvetisin V-1829	<i>Lb. helveticus</i>

Kamperman yakın zaman önce, modifiye olmayan dairesel yapıda antibakteriyel peptitlerden oluşan yeni bir gruptan (Sınıf VI) bahsetmiştir. Cotter ise 2005 yılında bakteriyosinler için Klaenhammer (1993)'ın yaptığı sınıflandırma üzerinde bir takım değişiklikler yapmıştır ve bakteriyosinleri prensipte lantibiyotikler (Sınıf I) ve lantionin içermeyenler (Sınıf II) olmak üzere iki ana kategori altında toplamıştır. Klaenhammer (1993)'ın yaptığı sınıflandırmada yer alan Sınıf III bakteriyosinleri, bakteriyolizinler olarak yeniden adlandırılmıştır ve Sınıf IV sınıflandırma sistematüğinden çıkarılmıştır. Ek olarak Klaenhammer (1993)'ın Sınıf II alt grupları IIa ve IIb aynen korunmuş, Kamperman'ın önerdiği sınıf VI (dairese peptitler) IIc olarak değiştirilmiştir. IIc olarak adlandırılan alt grup ise lantibiyotik olmayan diğer bakteriyosinleri içermektedir. Klaenhammer ve Cotter'ın yaptığı sınıflandırma Şekil 2.1'de özetlenmiştir (Dinçer ve ark. 2010). Bakteriyosinlerin sınıflandırılması hala tartışılan bir konu olmaktadır.

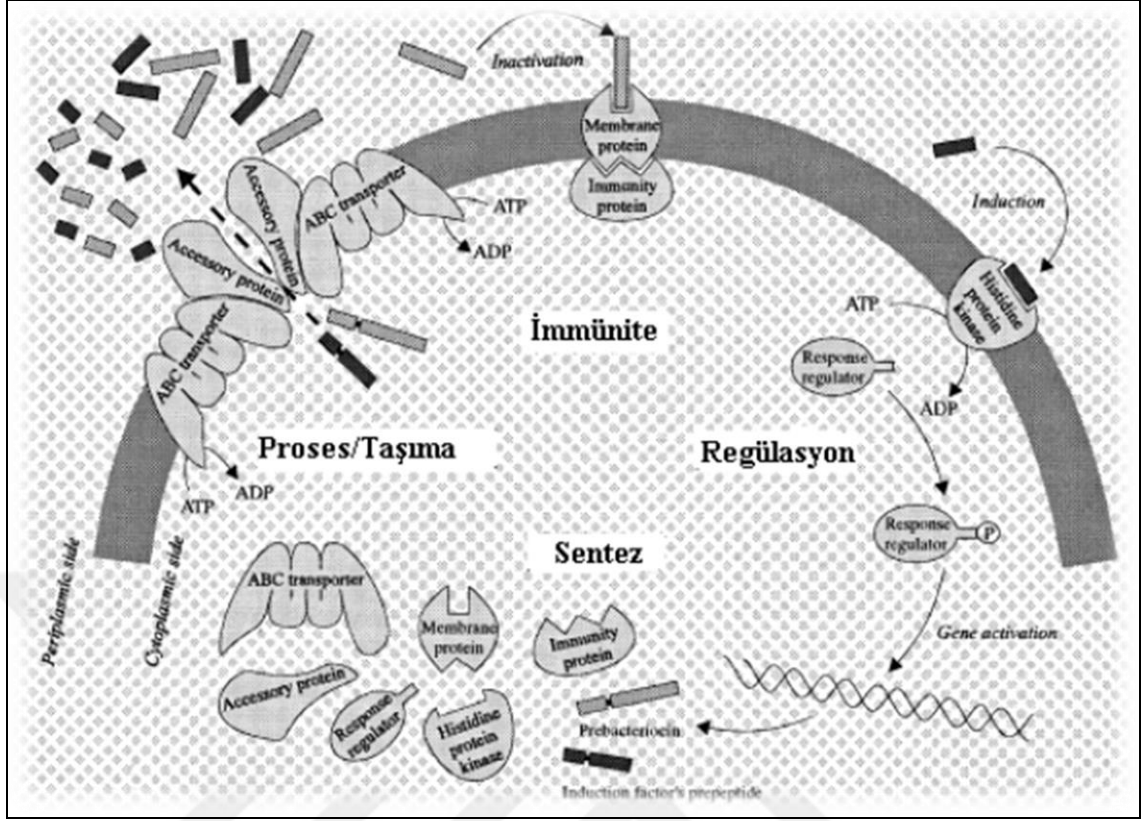


Şekil 2.1. Bakteriyosinlerin kabul gören sınıflandırma sistematüğü (Dinçer ve ark. 2010)

2.2.2. Bakteriyosinlerin biyosentezleri

Bakteriyosinler ribozomal olarak sentezlenmektedir. Bakteriyosin üretimi ile immüniteyi kodlayan genler, kromozom, plazmid ve transpozon üzerinde bulunabilmektedir. Birçok bakteriyosinin yapısal genleri operona benzer bir yapı göstermektedir. Bakteriyosinlerin üretiminin gerçekleştirilebilmesi için prepeptidi kodlayan bir yapısal gene, immünite genine, ABC taşıyıcısını (ATP-binding cassette transporters) kodlayan gene ve bakteriyosinin dışarı taşınmasında görev alan aksesuar proteinini kodlayan gene ihtiyaç vardır (Garneu ve ark. 2002, İşleroğlu 2006, Bilgin 2008, Uludağ 2015). Bütün operonlar bütün genleri içermemekte ve operonlarda genlerin dizilimi aynı olmamakla birlikte birçok benzerlikleri bulunmaktadır (İşleroğlu 2006). Bütün bakteriyosinlerin biyosentez mekanizması birbirine benzemektedir. Sınıf I bakteriyosinlerin biyosentezinde bulunan kimyasal modifikasyon aşaması anormal aminoasitlerin (lantibiyotikler, dehidre aminoasitler vb.) üretiminden sorumludur. Sınıf II ve sınıf III bakteriyosinleri kimyasal modifikasyona uğramadıklarından dolayı anormal aminoasitleri içermemektedirler (İşleroğlu 2006, Savadogo ve ark. 2006, Asutay 2007, Bilgin 2008, Uludağ 2015).

Bakteriyosinlerin biyosentezinde histidin protein kinaz enzimi, respons regülatörü ve indüksiyon faktöründen oluşan üç bileşenli regülatör sistemi rol oynamaktadır. Membranda yer alan histidin protein kinaz enzimi indüksiyon faktörü tarafından uyarılmaktadır. Daha sonra histidin protein kinaz enzimi sitoplazma içerisinde yer alan respons regülatörünü fosforilize eder ve uyarı hücreye iletilir (Ennahar ve ark. 2000, İşleroğlu 2006, Bilgin 2008, Uludağ 2015). Şekil 2.2’de bakteriyosinlerin regülasyonu ve biyosentezlerinin şeması gösterilmektedir.



Şekil 2.2. Bakteriyosinlerin regülasyonu ve biyosentezleri (Uludağ 2015)

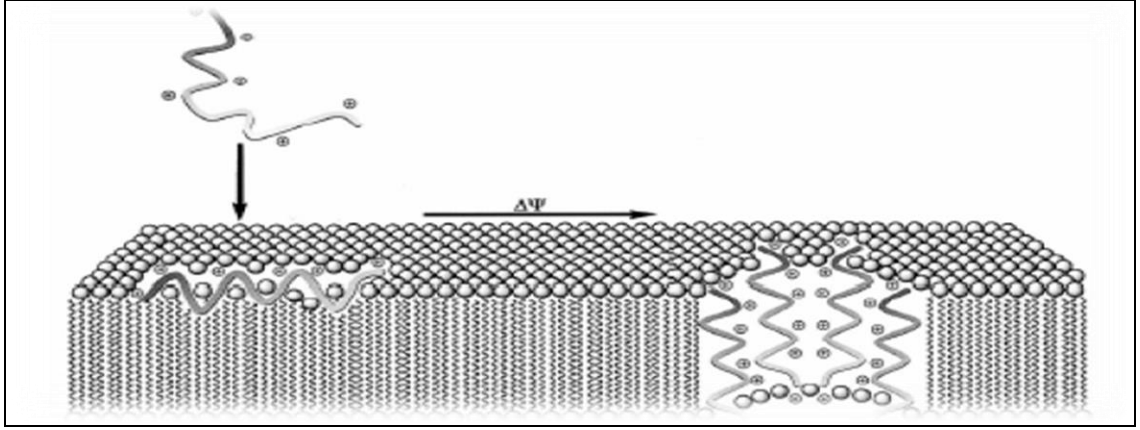
Yapısal gen bir prebakteriyosin (prepeptit) olarak kodlanmaktadır. Biyolojik olarak inaktif olan prebakteriyosinler N terminallerinde lider peptiti ve C terminallerinde propeptiti içermektedir. Prebakteriyosinin taşınması veya olgunlaşması sırasında N-terminal uzantısı enzim vasıtasıyla parçalanıp uzaklaşmakta ve böylece aktif hale geçmektedirler (Bilgin 2008, Uludağ 2015). Bakteriyosinlerin hücre içinde sentezleri gerçekleştiikten sonra, hücre dışında etkilerini gösterecekleri bölgelere taşınmaktadır. Sentezlenen bakteriyosinler hücre dışına aksesuar proteini ve ABC taşıyıcısı vasıtasıyla taşınmaktadır. ABC taşıyıcısı prebakteriyosinin taşınmasında görev almaktadır. Ayrıca proteolitik aktiviteye sahip olduğundan prepeptidin lider dizisini parçalayıp lider peptidi uzaklaştırmakta ve olgun bakteriyosin sitoplazmik membrandan dışarıya taşınmaktadır. Membranda bulunan hidrofobik N terminal bölge ve büyük hidrofilik C terminal bölgesinden oluşan aksesuar proteinleri bakteriyosinlerin taşınmasında rol oynamaktadır (Klaenhammer 1993, Rodriguez ve ark. 2003, İşleroğlu 2006, Bilgin 2008, Uludağ 2015).

Bazı bakteriyosinler ise genel salgılanma yolu ile sentezlenmektedirler. Genel salgılanma yolu ile açığa çıkan proteinler pozitif yüklü N-terminal ucu, hidrofobik bir merkez ve parçalanma bölgelerinden oluşan, sinyal peptit olarak adlandırılan bir N-terminal lider dizisi içermektedir. Parçalanma bölgesi proteinlerin sitoplazmik membrandan çıkmasını sağlamak ve membrandan taşınması sırasında bir sinyal peptidaz tarafından parçalanmaktadır. Enterosin P, Divergesin A ve Bakteriyosin 31 genel salgılanma yolu ile salgılanan bakteriyosinlerdir (Pugsley 1993, Cintas ve ark. 1997, İşleroğlu 2006).

2.2.3. Bakteriyosinlerin antimikrobiyel etki mekanizmaları

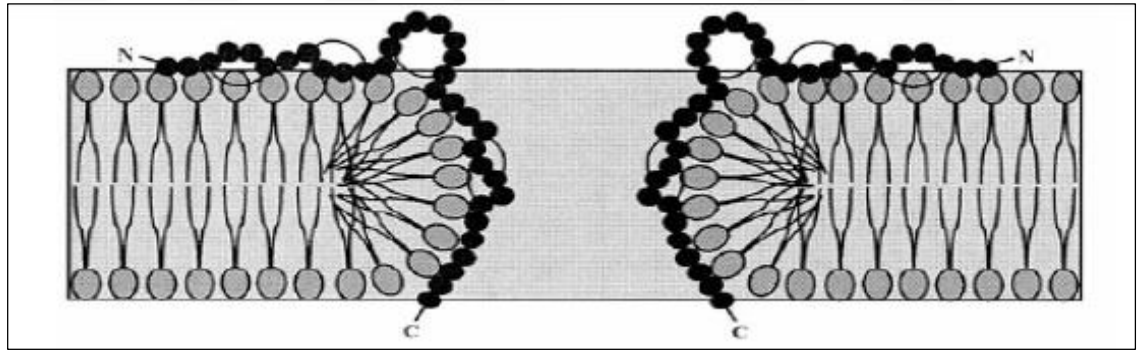
Bakteriyosinler bakterilerin hücre zarlarında iyonik porlar oluşturarak potasyum ve inorganik fosfat sızmasına neden olmakta ve membran iyon dengesi bozulmaktadır. Bu durum transmembran potansiyeli ve pH gradyanını yok ederek proton itici gücü ortadan kaldırmaktadır. Proton itici güç, hücre içinde ATP'nin sentezlenmesi, metabolit ve iyonların birikmesi gibi önemli işlemlerden sorumludur. Dolayısıyla bu gücün ortadan kalkması bakteri hücrelerinin inhibisyonuna sebep olmaktadır (Bruno ve Montville 1993, İşleroğlu 2006, Bilgin 2008, Türemiş 2012). Bakteriyosinlerin duyarlı hücrelerin sitoplazmik membranda por oluşturmalarıyla ilgili olarak öne sürülen başlıca üç model bulunmaktadır. Bu modeller “Barrel-Stave”, “Wedge-Model” ve “Lipit II Model”dir (İşleroğlu 2006, Bilgin 2008, Türemiş 2012, Uludağ 2015).

Barrel–Stave mekanizmasında, bakteriyosinlerin katyonik yük taşıyan C terminali, fosfolipitlerin fosfat grupları ile elektrostatik interaksiyona girerek membranda incelmeye neden olmaktadır (Şekil 2.3). Membran potansiyeli varlığında membran içine girip oligomerize olmakta ve böylece membranda iyonik porlar oluşturmaktadırlar. Peptitler merkezi kanalın etrafında dizilmekte ve hidrofilik yüzeyler gözenğin merkezine doğru, hidrofobik yüzeyler ise membrana doğru yönelmektedir (McAuliffe ve ark. 2001, Garneau ve ark. 2002, İşleroğlu 2006, Uludağ 2015).



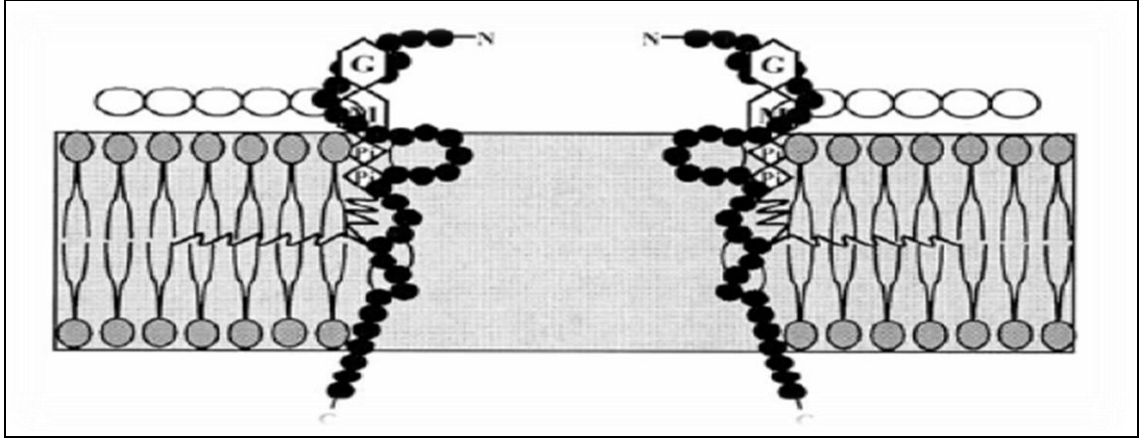
Şekil 2.3. Barrel-Stave mekanizması ile por oluşumu (Uludağ 2015)

Wedge-Modeli'nde lantibiyotiklerin pozitif yüklü C-terminali anyonik fosfolipitlerle iyonik etkileşime girerek membran yüzeyine sıkıca tutunmakta ve lipit dinamiğinde bozulmaya sebep olmaktadır (Şekil 2.4). Bakteriyosin molekülleri yeterli miktarda membran potansiyeli varlığında (-100 mV), membran içinde kıvrılmalara neden olmakta böylece gözenekler oluşmaktadır (Koponen 2004, Bauer ve Dicks 2005, İşleroğlu 2006, Bilgin 2008, Uludağ 2015).



Şekil 2.4. Wedge-Model ile por oluşumu (Uludağ 2015)

Lipit II modelinde lantibiyotik öncelikle 1:1 oranında lipit bağlı peptidoglukan prekürsörü olan lipit II'nin karbonhidrat kısmına bağlanmaktadır. Bu bağlanmada negatif bir yüzey gereksiz lantibiyotiğin N-terminali rol oynamaktadır. Lantibiyotiğin C terminal ucu membran içine girerek membranın karşı tarafına geçmektedir. Gözeneklerin oluşması için birkaç lantibiyotik/lipit II kompleksi gerekmektedir (Şekil 2.5) (Koponen 2004, Bauer ve Dicks 2005, İşleroğlu 2006, Bilgin 2008, Uludağ 2015).



Şekil 2.5. Lipit II modeli ile por oluşumu (Uludağ 2015)

2.2.4. Bakteriyosinlerin antimikrobiyel etki spektrumları

LAB bakteriyosinleri genellikle Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite göstermekte olup özellikle *B. cereus*, *C. botulinum*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* gibi patojen ve gıdalarda bozulmaya neden olan bakteriler üzerinde inhibitör etkiye sahiptir. Gram negatif bakteriler, dış membranlarından dolayı antimikrobiyel maddelere karşı daha dirençli olduklarından dolayı bu bakterilerin ısıtılma, trisodyum fosfat veya EDTA gibi şelat ajanlarına maruz bırakıldıklarında bakteriyosinlere olan dirençlerini kaybettikleri bildirilmiştir (Cotter ve ark. 2005, Kurt ve Zorba 2005, Asutay 2007, Uludağ 2015). En yaygın kullanılan bakteriyosin nisindir. Nisin, Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyel etki göstermesine rağmen Gram negatif bakterilere karşı tek başına aktivite göstermemektedir. *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* gibi patojenlerin gelişimini EDTA gibi şelat ajanlarının nisin ile kombinasyonu kullanıldığında veya sıcaklık şoku uygulandığında önlediği görülmektedir (Cleveland ve ark. 2001, Kurt ve Zorba 2005, İşleroglu 2006, Bilgin 2008).

Cintas ve ark. (1998) tarafından yapılan bir çalışmada enterosin L50, pediosin PA-1, nisin A ve laktosin S'nin gıdalarda bozulma etmeni bazı patojenlere karşı antimikrobiyel aktiviteleri incelenmiştir. Nisin A ve laktosin S *Listeria monocytogenes*'e karşı inhibitör aktivite göstermezken, Enterosin L50 ve pediosin PA-1'in bu patojene karşı aktif olduğu görülmüştür. Ayrıca Enterosin L50 *S. aureus*, *C. perfringens* ve *C. botulinum*'a karşı da

antimikrobiyel aktivite gösterirken diğer bakteriyosinlerin söz konusu bakterilere karşı aktivite göstermediği bildirilmiştir.

Du Toit ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada *E. faecalis* suşlarının genellikle enterokok türlerine karşı etkili olduğu, *E. faecium* suşlarının ise, *Propionibacterium* spp., *Clostridium sporogenes*, *Clostridium tyrobutyricum*, *L. innocua* ve *L. monocytogenes*'i kapsayan antimikrobiyel aktivite spektrumuna sahip olduğu belirlenmiştir.

Laukova ve ark. (1999) süt ürünlerinde yaptıkları bir çalışmada enterosin CCM 4231'in *L. monocytogenes* ve *S. aureus* gelişimi üzerine inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir.

Meyve sularında bozulma etmeni olan *Alicyclobacillus acidoterrestris*'in *E. faecalis* A-48-32 suşu tarafından üretilen enterosin AS-48 bakteriyosini ile inhibe edildiği gözlenmiştir. Ayrıca bakteri endosporlarının bakteriyosinlerle kısa süreli inkübasyonu sonucu inaktive olduğu belirlenmiştir (Grande ve ark. 2005).

L. mesenteroides KCCM 11324'e karşı bakterisidal aktiviteye sahip bir bakteriyosin üreticisi olan *Lc. lactis* NK24 suşu tarafından üretilen laktisin NK24'ün Gram negatif bakterilerden *E. coli* KCMM32396 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC15442'ye ve çoğu laktik asit bakterisine karşı antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Lee ve Paik 2001).

E. faecium MMT21 suşu tarafından üretilen enterosin A ve B'nin *Lc. lactis*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *S. aureus*, *L. ivanovii* ve *L. monocytogenes* üzerinde antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Ghraiiri ve ark. 2008).

2.2.5. Bakteriyosinlerin üretimi, antimikrobiyel aktiviteleri ve stabilitesini etkileyen faktörler

Bakteriyosin üretimi, aktivitesi ve stabilitesini etkileyen faktörler; besiyerinin bileşimi, üretici bakterinin gelişme fazı, besiyeri başlangıç pH'sı, fermentasyon şekli (kesikli ve sürekli), inkübasyon sıcaklığı ve süresi, ısı işlem, proteolitik enzimler ve depolama koşullarıdır (Asutay 2007, Uludağ 2015). Kullanılan besiyerinde bulunan bazı bileşikler

(laktoz, maya ekstraktı, tampon madde vb.) bakteriyosin aktivitesinin korunmasına ve artmasına olanak sağlamaktadır. Bakterilerin gelişmesi için gereken en uygun sıcaklık ve pH değeri genellikle bakteriyosin üretimi için de optimum değer olmakla birlikte bazı bakteriyosinlerin gelişme sıcaklığının biraz altındaki derecelerde de üretildiği görülmektedir. Ancak inkübasyon süresinin uzatılması ve optimum sıcaklığın çok altında veya üstünde inkübe edilmesi bakteriyosin aktivitesi üzerinde olumsuz etkilere sebep olmaktadır. İnkübasyon süresinin uzamasıyla asitlik artmakta, bakteri tarafından salgılanan veya lize olan bakterilerden ekstraselüler ve intraselüler proteazlar açığa çıkmakta dolayısıyla bakteriyosinin aktivitesi azalmaktadır (Todorov ve Dicks 2006, Uludağ 2015).

Bakteriyosin üreten mikroorganizmaların veya bakteriyosinlerin gıda sanayinde kullanımlarını sınırlayan faktörler; bakterinin adaptasyon yeteneği, ürüne ait özellikler, hedef bakteride dirençlilik gelişimi ve bakterinin rekabet gücü, bakteriyosinin veya üretici suşun ilave edileceği ürünün üretim parametrelerine duyarlılık, inaktivasyon riski, duyuşal özelliklerden kaynaklı olumsuzluklar, aktivite spektrumu, inhibitör maddeler ve gıda bileşenleriyle spesifik olmayan bağlanma (lipitlerin neden olabileceği inaktivasyon) şeklinde sıralanabilmektedir (Türemiş 2012, Uludağ 2015).

Bakteriyosinlerin antimikrobiyel etkilerinin az ve aktivite spektrumlarının sınırlı olması gıdalarda uygulamalarını sınırlayan en büyük engeli teşkil etmektedir. Bakteriyosinlerin, çok faktörlü bir sistemin parçası olarak kullanılması, daha başarılı sonuçlar alınmasını sağlamaktadır. Gıda güvenliğinin sağlanmasında ve gıdaların muhafazasında tek başına yeterli olamayan birçok faktörün (sıcaklık, pH, su aktivitesi, oksidasyon/redüksiyon potansiyeli, farklı antimikrobiyel maddeler) bir arada kullanılarak sinerjistik bir etkinin ortaya çıkmasına “Hurdle Etkisi” (veya engeller teknolojisi) denilmektedir (Cleveland ve ark. 2001, Chen ve Hoover 2003, Türemiş 2012).

Bakteriyosin uygulamalarındaki sınırlamaların dayandırıldığı nedenler arasında; bakteriyosinlerin dar spektrum aralığına sahip olması, yapı ve fonksiyonları hakkındaki bilginin yetersiz olması, suşlardaki bakteriyosin üretiminin zayıf olması, bakteriyosinlerin insanların sindirim sisteminde oluşturacağı etkilerin belirlenememiş

olması, bakteriyosinlerin gıda maddeleri içerisindeki davranışlarının bilinmemesi bulunmaktadır (Uludağ 2015).

Cheigh ve ark. (2002) *Lc. lactis* subsp. *lactis* A164 tarafından üretilen nisin benzeri bakteriyosinin üretimi üzerine yapmış oldukları bir çalışmada bakteriyosinin karbon ve azot kaynaklarından fazlaca etkilendiği görülmüştür. A164 suşunun laktoz ilave edilmiş M17 besiyerinde diğer karbon kaynakları kullanılmış besiyerlerine göre 4 kat daha fazla bakteriyosin ürettiği gözlenmiştir. % 3 düzeyinde maya ekstraktı ilavesi optimum azot kaynağı olarak bulunmuştur. Bakterinin optimum gelişme sıcaklığı 37°C, bakteriyosin üretimi için optimum sıcaklık 30°C olarak tespit edilmiştir. Gelişme için optimum pH 5,5-6,5 arasında değişirken bakteriyosin üretimi için optimum pH'nın 6,0 olduğu belirlenmiştir. Maksimum aktivite M17L broth (% 3 laktoz), 30°C ve pH 6,0'da erken durgun gelişme fazında gözlenmiştir.

P. acidilactici NRRL B-5627'nin ürettiği pediosinin papain, pepsin, subtilisin ve tripsin ile 15 dakika muamele sonucunda aktivitesini kaybettiği görülmüştür. *Lc. lactis* subsp. *lactis* CECT 539 tarafından üretilen nisinin pepsin, tripsin ve subtilisin ile muamele sonucu aktivitesini tamamen kaybettiği, ancak papain ile muamele sonucu aktivitesini % 50 oranında kaybettiği tespit edilmiştir (Guerra ve ark. 2001).

Blom ve ark. (1997) agar plate model sisteminde indikatör hücre sayısı, pH, NaCl, agar ve soya yağı konsantrasyonunun pediosin PA-1, pissikolin 61, sakasin P, nisin ve sakasin A bakteriyosinlerinin difüzyonları üzerine etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda bazı bakteriyosinlerin difüzyon alanlarının, faktörler düşük miktarlardan yükseğe doğru çıktıkça değiştiği görülmüştür. Her bakteriyosinin profilini etkileyen bir karakteristik iç faktörünün olduğu fakat pH ve indikatör hücrelerin yoğunluğunun tüm bakteriyosinleri etkilediği görülmüştür.

E. faecium N15 tarafından üretilen bakteriyosinin pepsin, tripsin, proteinaz K, α -kimotripsin ve α -amilaza karşı duyarlı, lipaz enzimine ise dayanıklı olduğu saptanmıştır. Bakteriyosin, 100°C'de 2 saat ısıtılma dayanıklı olduğu halde 121°C'de 15 dakika otoklavlama koşullarında aktivitesini tamamen kaybetmektedir. Söz konusu

bakteriyosinin pH 2-10 aralığında geniş aktivite spektrumuna sahip olduğu belirtilmiştir (Losteinkit ve ark. 2001).

2.2.6. Bakteriyosinlerin saflaştırılmaları

Bakteriyosinlerin saflaştırılmasında kullanılan yöntemler bakteriyosinlerin katyonik ve hidrofobik moleküller olmaları, Gram pozitif bakterilere adsorbe olabilmeleri ve adsorpsiyonun pH'ya bağlı olması özelliklerine dayanarak geliştirilmiştir. Saflaştırmanın ilk aşamasında temel amaç hacmin azaltılması ve istenmeyen bazı protein ve lipit gibi bileşiklerin uzaklaştırılmasıdır. Bu nedenle tuzla çöktürme, asitle veya diğer organik çözücülerle pıhtılaştırma, diyaliz, ultrafiltrasyon gibi yöntemler kullanılır. İkinci aşamada ise temel amaç besiyerinden ve hücre metabolizmasından kaynaklanan kontamine proteinlerden iyi derecede bir arındırma sağlamak olduğundan jel filtrasyonu, anyon veya katyon değiştirici kromatografisi, hidrofobik interaksiyon kromatografisi gibi kromatografik yöntemlerden yararlanılmaktadır (Yang ve ark. 1992, Coventry ve ark. 1996, Asutay 2007, Bilgin 2008).

2.2.7. Bakteriyosinlerin kullanım alanları

Bakteriyosinler, gıdalarda koruyucu olarak, klinikte, veterinerlikte, bitki hastalıklarının kontrolünde ve antitümör araştırmalarında kullanılmaktadır (Dinçer ve ark. 2010, Uludağ 2015). Bakteriyosinlerin veya bakteriyosin üreticisi suşların gıda endüstrisinde kullanımı üzerine olan çalışmalar gıdanın çeşidine, hammaddeye ve üretim koşullarına bağlı olarak gıdalarda bozulma yapan patojen bakteriler üzerine yoğunlaşmıştır (Galvez ve ark. 2008). Tüketicilerin kimyasal koruyucu içermeyen, az işlem görmüş doğala yakın ürünleri tercih etmeleri, üreticilerin ise raf ömrü uzun, güvenli ve kaliteli gıda üretimi üzerine yoğunlaşmaları gıdalarda koruyucu olarak bakteriyosinlerin veya bakteriyosin üretici türlerin kullanımının önünü açmıştır. Bakteriyosinlerin kullanımı sayesinde, gıda bozulmalarından kaynaklı ekonomik ve endüstriyel kayıplar azalmakta ve kimyasal koruyucu katkı maddeleri daha az kullanılmaktadır (Başbülbul 2009, Uludağ 2015). Ayrıca bakteriyosinlerin renksiz, kokusuz ve tatsız olmaları, kolaylıkla sindirilebilmeleri ve ısıya olan dirençleri gıda endüstrisinde kullanım alanı bulmalarına olanak sağlamaktadır (De Martinis ve ark. 2002, Uludağ 2015).

Bakteriyosinlerin aktiviteleri gıdanın fiziksel özelliklerine ve kimyasal kompozisyonuna bağlıdır. Bakteriyosinlerin birçok gıda sisteminde tek başına koruyucu olarak kullanımlarında karşılaşılan en büyük engel, sahip oldukları sınırlı aktivite spektrumları ve antibakteriyel etkilerinin az olmasıdır. Bakteriyosinler genellikle Gram negatif bakterilere karşı etkili değildir. Ancak Gram negatiflerin dış membranlarında lipopolisakkarit tabakadaki magnezyum iyonlarını bağlayan EDTA gibi şelat ajanlarının kullanımıyla dış membranlarının geçirgenlik bariyerleri etkisiz hale getirildiğinde bakteriyosinin sitoplazmik zara geçişi sağlanabilmektedir (Sezer 2007).

Koruyucu kültür olarak, daha çok laktik asit bakterileri yaygın olarak kullanılırken, bakteriyosin olarak, GRAS statüsünde kabul edilen ilk bakteriyosin olan nisin kullanılmaktadır. Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından birçok ülkede gıda koruyucusu olarak kullanımı onaylanan nisin "Nisaplin" adı ile ticari üretimi yapılmaktadır (Settanni ve Corsetti 2008, Avcı 2015). Nisin düşük pH'ya dayanıklı olup, vejetatif hücrelere ve bakteriyel endosporlara karşı da etkilidir (De Martinis ve ark. 2002, Chen ve Hoover 2003). 1988 yılından beri FDA tarafından *C. botulinum* sporlarının gelişmesini ve toksin oluşumunu önlemek amacıyla pastörize peynirlerde kullanımına izin verilmiştir. Ayrıca salamda, konserve balıklarda, hazır etlerde ve çeşitli kozmetik ürünlerinde özellikle depo ömrünü arttırıcı olarak kullanılmaktadır (İşleroğlu 2006).

Ayrıca ticari olarak üretimi yapılan ve Alta® 2341 markası ile bilinen pediosin PA-1, et ürünlerinde *L. monocytogenes* gelişimini engellemek amacıyla kullanılmaktadır (Settanni ve Corsetti 2008). Geleneksel Avrupa peynirleri gibi ürünlerin işlenmesi sırasında hayvan kaynaklı bulaşlar meydana gelmektedir. Bakteriyosin üreticisi *Enterococcus* suşları peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılarak kontaminant floranın gelişmesi engellenebilmektedir (Foulquie Moreno ve ark. 2006, Avcı 2015). Çizelge 2.3'te bakteriyosinlerin gıdalarda kullanımlarına örnekler verilmiştir.

Çizelge 2.3. Bakteriyosinlerin gıdalarda kullanımına örnekler (İşleroğlu 2006, Gao ve ark. 2014^a, Gui ve ark. 2014^b, Shamloofar ve ark. 2015^c)

Bakteriyosin	Uygulama	Sonuç
Nisin A	Nisinin Ricotta peynirinde <i>L. monocytogenes</i> gelişiminin kontrol edilmesi için kullanılması	Nisinin 8 haftada <i>L. monocytogenes</i> 'i inhibe ettiği belirlenmiştir.
Pediosin	Baharatlı sosis üretiminde pediosin üreten <i>P. acidilactici</i> 'nin katılması	15°C'de anaerobik koşullarda 15 güne kadar <i>L. monocytogenes</i> gelişiminin kontrol edildiği saptanmıştır.
Pediosin PA-1 (AcH)	Cheddar üretiminde bir pediosin üreten <i>Lc. lactis</i> 'in starter olarak kullanılması	<i>L. monocytogenes</i> sayısının bir haftada 10 ² cfu/g'a düştüğü saptanmıştır.
Enterosin	Taleggio peyniri üretiminde enterosin üreten <i>Enterococci</i> kullanılması	<i>L. innocua</i> 'nın inhibe olduğu tespit edilmiştir.
	Manchego peyniri üretimi için enterosin üreten <i>E. faecalis</i> 'in starter olarak kullanılması	<i>L. monocytogenes</i> Ohio'nun inhibe olduğu görülmüştür.
	Enterosinin tavuk göğsü, jambon, domuz eti ve sosise katılması	<i>L. monocytogenes</i> gelişiminin birçok koşul altında kontrol edildiği belirlenmiştir.
Laktisin 3147	Laktisin 3147'nin toz preparatının cottage peyniri, yoğurt ve toz haldeki çorbalara katılması	<i>L. monocytogenes</i> ve <i>B.cereus</i> 'un bu ürünlerdeki gelişiminin kontrol edildiği belirlenmiştir.
	Cottage peynirinin üretiminde laktisin 3147 üreten <i>Lc. lactis</i> 'in kullanımı	4°C'de 5 günde <i>L. monocytogenes</i> Scott A sayısının %99,9 azaldığı gözlenmiştir.

Çizelge 2.3. Bakteriyosinlerin gıdalarda kullanımına örnekler (İşleroğlu 2006, Gao ve ark. 2014^a, Gui ve ark. 2014^b, Shamloofar ve ark. 2015^c) (devamı)

Bakteriyosin	Uygulama	Sonuç
Leukosin A	<i>Leu. gelidum</i> UAL 187'nin sığır etinin bozulmasının kontrolünde kullanılması	<i>Lb. sake</i> bozulmasının 6 haftaya kadar geciktiği gözlenmiştir.
Laktosin 705	Laktosin üreten <i>Lb. casei</i> 'nin, öğütülmüş sığır etine <i>L. monocytogenes</i> kontrolünde kullanılması	<i>L. monocytogenes</i> 'in inhibe olduğu saptanmıştır.
Sakasin A	Sakasin A üreten <i>Lb. sake</i> 'nin kıyma ve çiğ domuz etine katılması	<i>L. monocytogenes</i> 'in inhibe olduğu saptanmıştır.
Enterosin AS-48	Enterosin AS-48 sosislerde kullanımı	<i>S. aureus</i> gelişimini inhibe ettiği saptanmıştır.
Enterosin CCM 4231	Süt ürünlerinde Enterosin CCM 4231 kullanımı	<i>S. aureus</i> ve <i>L. monocytogenes</i> gelişimini durdurduğu saptanmıştır.
Nisin	Taze alabalık filetolarında nisin kullanımı ^c	Laktik asit bakterileri üzerine inhibitör etkili olduğu saptanmıştır.
	Pompano filetolarında nisinin biberiye ekstraktı ile birlikte kullanımı ^a	Raf ömründe 6 güne varan artış gözlemlenmiştir.
Paraplantarisin	Gökkuşığı alabalıklarında paraplantarisin kullanımı ^b	<i>Pseudomonas</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> ve spor oluşturan bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Bakteriyosinlerin gıda koruyucusu olarak kullanımını dışında farklı alanlarda da kullanım olanakları bulunmaktadır. Günümüzde hastalık etmeni patojenlerin sık ve yanlış antibiyotik kullanımı sonucu direnç kazanması, giderek artan bir sorun haline gelmektedir. Çoklu ilaç direnci gösteren patojen bakterilerin artışı, insan ve hayvan enfeksiyonlarının önlenmesinde ve tedavisinde alternatif antimikrobiyel maddelerin kullanımını konusunda yeni araştırmaların önünü açmıştır. Bu amaçla birçok bilim insanı bakteriyosinlerin tıbbi ürünlerde ve kişisel bakım ürünlerinde kullanım olanakları konusunda çalışmalar yürütmektedir (Uludağ 2015).

Salivaricin A2 ve B üreten *Streptococcus salivarius* K12 suşunun özellikle çocuklarda akut enfeksiyonlara neden olan *Streptococcus pyogenes*'e karşı inhibitör olarak kullanılabilmesi belirlenmiştir (Tagg 2004). Tüm bunların yanısıra Reddy ve ark. (2004) tarafından yapılmış olan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda nisin'in doğum kontrol etkinliğinin bulunduğu belirlenmiştir.

2.3. Bakteriyosinlere Direnç Mekanizması

Bakteriyosinlerin hedef aldığı patojenlerin, bakteriyosinlere karşı direnç geliştirebilme olasılıkları, gıdalarda koruyucu olarak kullanılmaları hususunda endişeye neden olmaktadır. Bu alanda en çok araştırmalara konu olan bakteriyosinler nisin, pediosin ve bazı Sınıf IIA üyeleridir (Gravesen ve ark. 2002, Türemiş 2012). Bakteriyosinlerin antibiyotiklerden farklı bir yapıya sahip olmalarına rağmen antibiyotik dirençliliğe sahip birçok patojen bakteri üzerinde bakteriyosinlerin direnç mekanizması ilgi odağı olmuştur. Bakteriyosinler için direnç mekanizmasının nasıl işlediğinin bilinmemesine rağmen, düşük molekül ağırlıklı bakteriyosinlerin çoğunun bakteriyel membran ile ilişkili olduğu düşünülmekte dolayısıyla direncin genellikle bakteriyosinin hedeflediği bakterinin membranındaki değişikliklere bağlı olarak şekillendiği belirtilmektedir. Direnç gelişimi, hücre duvarının ve hücre zarının yükü, hücre zarı akışkanlığındaki değişimler, hücre duvarının sahip olduğu kalınlık ve bu faktörlerin kombine etkileri ile ilişkilidir (Stiles 1996, Sezer 2007, Türemiş 2012).

Ming ve Daeschel (1993) tarafından yürütülen çalışmada, *L. monocytogenes* Scott A'nın minimum inhibisyon konsantrasyonundaki (MİK) nisine 2–8 defa maruz kalması halinde nisine karşı direnç geliştirdiği görülmüştür. Hücrelerin nisine karşı direnç mekanizması tam olarak belirlenememiş olmasına rağmen, Lipid II kısmındaki değişimlerle ilgili olmadığı düşünülmektedir. Nisine karşı direnç gelişimine neden olan ve nisini kalıtsal olarak tolere eden genetik lokuslar tanımlanmış olup, bu hususta en önemli faktörün hücre duvarı yükü olduğu belirlenmiştir.

Vadyvaloo ve ark. (2004) tarafından Sınıf Ila dirençli *L. monocytogenes*'in direnç mekanizmasının incelendiği çalışmada hücre zarı akışkanlığının ve hücre yüzeyi yükünün direnç gelişiminde önemli olduğu saptanmıştır.

2.4. Enterokokların Genel Özellikleri

Enterokokların ilk tanımı Thiercelin tarafından 1899 yılında yapılmıştır (Franz ve ark. 1999). Sherman 1937 yılında streptokokları piyojenik streptokoklar, laktik streptokoklar, viridans streptokoklar ve enterokoklar olmak üzere dört grup altında toplamıştır. *Streptococcus* cinsi bakteriler daha sonra fizyolojik testlerin, serolojik çalışmaların, süperoksit dismutaz enzim analizlerinin ve nükleik asitlerin hibridizasyonu gibi moleküler tekniklerin kullanılmasıyla birlikte *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Enterococcus* olmak üzere 3 ayrı cins olarak anılmaya başlanmıştır (Franz ve ark. 2003, Gök Charyyev 2016).

16S rRNA dizilimi dikkate alındığında *Enterococcus* cinsi dört gruba ayrılmıştır. *E. faecium*, *E. hirae* ve *E. mundtii* “faecium” grubunu, *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus* ve *E. pseudoavium* “avium” grubunu, *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* “gallinarum” grubunu, *E. columbae* ve *E. cecorum* ise diğer grubu oluşturmaktadır. *E. faecalis*, *E. saccharolyticus*, *E. dispar*, *E. sulfurous*, *E. flavescens*, *E. seriolicida* ve diğer enterokok türleri ise bireysel olarak sınıflandırılmaktadır. Enterokok türleri arasında özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium* fermente gıdaların kendine has tat, aroma ve tekstür özelliklerinin gelişiminde önemli rol oynamalarından dolayı önem arz etmektedirler. Bu

iki tür ayrıca probiyotik olarak da değerlendirilmektedir (Franz ve ark. 1999, Franz ve ark. 2003, Özmen Toğay 2010, Özmen Toğay ve Temiz 2011, Gök Charyyev 2016).

Enterococcus cinsinin üyeleri, fakültatif anaerob, Gram pozitif, genellikle katalaz ve oksidaz negatif, kısa veya ikili zincirler halinde bulunan kok şekilli, spor oluşturmayan, *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* dışında hareketsiz bakterilerdir. Kemoorganotrofik ve homofermantatifler. Optimum olarak 35°C'de ürerler ancak 10-45°C sıcaklık aralığında, % 6,5 NaCl ve pH 9,6 ortamında da üreyebilmektedirler. 60°C'de 30 dakikalık ısıtma işlemine dayanabilmekte ve suşların çoğu % 40 safra tuzu varlığında eskulini hidrolize edebilmektedir. Enterokoklar genellikle hemolitik aktivite göstermezler. Ancak bazı suşlarının α -hemolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Franz ve ark. 1999, Gardini ve ark. 2001, Foulquie Moreno ve ark. 2006, Bilgin 2008, Özmen Toğay ve Temiz 2011, Gök Charyyev 2016). 16S rRNA dizisi analizleri karşılaştırıldığında *Enterococcus* cinsinin % G+C oranı düşük olup % 50'nin altındadır (İşleröglü 2006).

Enterokoklar, sağlıklı insan ve hayvanların bağırsak mikrobiyotasında doğal olarak bulunan bakteriler olup olumsuz çevre koşullarını tolere etme yetenekleri ve fekal kaynaklardan yayılmalarının bir sonucu olarak, topraktan, gıdalardan, su ve bitkilerden izole edilmektedirler (Foulquie Moreno ve ark. 2006, Cariolato ve ark. 2008, Ogier ve Serror 2008, Lopez ve ark. 2009, Çetinkaya ve Elal Muş 2010). Enterokoklar sucul ortamlardan, balıkların deri, solungaç ve bağırsaklarından, kabuklu deniz ürünlerinden izole edilmekte ve tuz konsantrasyonu yüksek ortamlara gösterdikleri tolerans nedeniyle deniz kıyılarında uzun süre canlı kalabilmektedir (Harwood ve ark. 2000, Valenzuela ve ark. 2010, Hammad ve ark. 2015). Ayrıca gastrointestinal sistem kökenli olmalarından dolayı fekal kontaminasyon indikatörü ve sanitasyon indeksi olarak da değerlendirilmektedirler (Çetinkaya ve Elal Muş 2010, Keeratipibul ve ark. 2010). Probiyotik olarak değerlendirilen suşlara sahip olmalarının yanı sıra *Enterococcus* türlerinin bazı suşları patojen özelliğe de sahiptir (Franz ve ark. 2003, Çetinkaya ve Elal Muş 2010).

Bazı enterokok türlerinin gıdalarda bulunma durumları Çizelge 2.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. Gıdalarda enterokokların ekolojisi (Klein 2003)

Tür	Peynir	Balık	Et	Domuz Karkası	Kıyılmış Sığır Eti	Kıyılmış Domuz Eti
<i>E. faecalis</i>	(+)	+	+	++	++	++
<i>E. faecium</i>	++	(+)	++	(+)	(+)	(+)
<i>E. durans/hirae</i>	(+)	-	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>E. gallinarum</i>	-	(+)	(+)	ND	(+)	(+)
<i>E. casseliflavus</i>	-	-	(+)	ND	-	(+)
<i>E. mundtii</i>	-	(+)	(+)	ND	ND	ND
<i>E. avium</i>	ND	ND	ND	ND	-	(+)
<i>E. malodoratus</i>	ND	ND	ND	(+)	ND	ND
<i>E. pseudoavium</i>	ND	ND	ND	(+)	ND	ND
<i>E. raffinosus</i>	ND	ND	ND	(+)	ND	ND

++: olağan; +: sık; (+): nadiren; -: bahsedilmemiş; ND: belirlenmemiş

Fekal koliformlar, *C. perfringens*, *E. coli* ve enterokoklar fekal kontaminasyon göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Sıcakkanlı hayvanlarda, toprakta, yüzey sularında, bitki ve sebzelerde bulunan enterokoklardan *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* türlerinin dışkı kökenli olmaları ve sucul ortamlarda üreyebilmeleri, bu bakterilerin sularda fekal kontaminasyon indikatörü olarak tanımlanmalarına neden olmaktadır. Dondurma ve kurutma gibi olumsuz ortam koşullarına gösterdikleri direnç nedeniyle su, dondurulmuş sebze, dondurma, sprey boyalarla kurutulmuş yumurta tozları ve dondurulmuş balık ürünlerinde enterokokların koliform grubu bakterilere göre sayısal üstünlük göstermesi fekal kontaminasyon indikatörü olarak mikrobiyolojik kriterler içerisinde yer alma eğilimini arttırmaktadır (Çıtak ve ark. 2009). Ancak Avrupa Birliği tarafından 1992 yılında *E. coli* ve koliform grubu bakterilerin hijyen indikatörü olarak gıdalarda maksimum bulunabilme düzeyinin belirlenmesine rağmen enterokoklar için bir limit belirtilmemiştir. Bu nedenle enterokokların gıdaların endüstriyel prosesinde hijyen indikatörü olarak daha az öneme sahip olduğu belirtilmektedir (Klein 2003, Foulquie Moreno ve ark. 2006, İşleroğlu 2006, Marekova ve ark. 2007, Özmen Toğay 2010). Enterokoklar sahip olduğu yararlı özellikler nedeniyle gıdalarda starter kültür, yardımcı kültür ve probiyotik olarak kullanılmaktadır. Probiyotik olarak kullanılan suşların safra tuzlarından etkilenmediği, düşük pH'lara dirençli olduğu ve bireylerde herhangi bir yan

etkiye neden olmadığı belirtilmektedir. Bazı enterokok suşlarının ishal tedavisinde antibiyotik uygulamasına alternatif olarak kullanılabileceği görülmüştür. Ayrıca antibiyotik kaynaklı ishallerin ve çocuk ishallerinin önlenmesi ve tedavisinde klinik olarak etkili olduğu ifade edilmektedir (Franz ve ark. 1999, Foulquie Moreno ve ark. 2006).

Enterokoklar bazı suşlarının sahip olduğu yararlı etkilerin yanında insanlarda bakteriyemi, sepsisemi, endokarditis ve üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan hastane kaynaklı patojen olarak da bilinmektedir. Enterokokların patojenitesi taşıdıkları virülens genleri ve antibiyotiklere karşı gösterdikleri direnç özellikleri ile ilişkilidir (Franz ve ark. 1999, Franz ve ark. 2003, Foulquie Moreno ve ark. 2006, Türemiş 2012).

Enterokoklar, laktik asit üretimi, lipolitik ve proteolitik aktiviteleri, probiyotik özellikleri, sitrat metabolizması ve bakteriyosin gibi antimikrobiyel maddeleri sentezleme yetenekleri nedeniyle gıda endüstrisinde önemli bir yere sahiptirler (Giraffa 2002, Ogier ve Serror 2008). Dolayısıyla peynir, sucuk, zeytin, tarhana vb. geleneksel fermente gıdalar ile diğer birçok gıdadan ve anne sütlerinden de izole edilebilmektedir. Anne sütünden izole edilen bakteriler arasında *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus* ya da *E. faecium* gibi türler potansiyel probiyotik bakteriler arasında değerlendirilmekte ve bazı suşlar ticari probiyotik ürünlerde kullanılmaktadır (Franz ve ark. 1999, Franz ve ark. 2003, Foulquie Moreno ve ark. 2006, Özmen Toğay 2010).

2.5. Enterosinler

Enterosinler, genellikle *E. faecium* ve *E. faecalis* tarafından üretilen bakteriyosinlerdir. Enterosinlerin *Clostridium*, *Listeria* ve *Staphylococcus* cinsi patojen bakterilerilere karşı aktivitesi saptanmıştır. Enterosinlerin genellikle sınıf I, sınıf II (IIa ve IIc grubu) ve sınıf III bakteriyosinlere üye oldukları görülmektedir. Sınıf I, sınıf IIa, sınıf IIc ve sınıf III bakteriyosinleri içinde yer alan enterosinler, üretici suşlar ve enterosinlerin amino asit dizilimleri Çizelge 2.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.5. Enterokoklar tarafından üretilen sınıf I, sınıf II ve sınıf III bakteriyosinleri (enterosinler) (Foulque Moreno ve ark. 2006)

Enterosin	Sınıf	Amino asit dizilimi	Üretici suş
Cyl L _L	I	MENLSVVPSFEELSVEEMEAIQSGSDVQAE TTPVQCAVAATAAASSAACGWVGGGIFTG VTVVVSLKHC	<i>E. faecalis</i> DS16
Cyl L _S	I	VLNKENQENYYSNKLELVGPSFEELSLEEM EAIQGQSGDVQAEETTPACFTIGLVGALFSA KFC	<i>E. faecalis</i> DS16
Enterosin A	IIA	TTHSGKYYGNGVYCTKNKCTVDWAKATT QCIAGMSIGGFLGGAIPGKC	<i>E. faecium</i> CTC492
Enterosin CRL 35	IIA	KYYGNGVTLNKKXGXSVMXXXA...	<i>E. faecium</i> CRL 35
Bakteriyosin 31	IIA	ATYYGNGLYCNKQKCVVDWNKASREIGKI IQVNGWVQHGPWAPR	<i>E. faecalis</i> Y1717
Enterosin P	IIA	ATRSYNGVYCNNSKCVVNWGEAKENIAG IQVISGWASGLAGMGH	<i>E. faecium</i> P13
Mundtisin	IIA	KYYGNGVSCNKKGCSVDWGKAIGIIGNNSA QANLATGGAAGWSK	<i>E. mundtii</i> AT06
Enterosin SE-K4	IIA	ATYYGNGVYCNKQKCVVDWSRARSEIIDR GQVKAYVNGFTKVLG	<i>E. faecalis</i> K-4
Enterosin AS-48	IIC	MAKEFGIPA AVAGTVLNVVEAGGWVTTIVS ILTAVQSGGSLSLAAAGRESIKAYLKKEIK KKGKRAVIAW	<i>E. faecalis</i> S-48
Enterosin B	IIC	ENDHRMPNELNRPNNLSKGGAKCGAAIAG GLFGIPQKGPLAWAAGLANVYSKCN	<i>E. faecium</i> T136
Enterosin Q	IIC	MNFLKNGIAKWMTGAELQAYKKKYGCLP WEKISC	<i>E. faecium</i> L50
Enterosin L50A	IIC	MGAI AKLVAKFGWPIVKKYYKQIMQFIGEG WAINQKIIEWIKKHI	<i>E. faecium</i> L50
Enterosin L50B	IIC	MGAI AKLVTKFGWPLIKKFKYKQIMQFIGQG WTIDQQIEKWLRH	<i>E. faecium</i> L50
Enterosin 1071A	IIC	ESVFSKIGNAVGPAAYWILKGLGNMSDVNQ AQDRINRKKH	<i>E. faecalis</i> BEF 1071
Enterosin 1071B	IIC	GPGKWLPWLQPAYDFVTGLAKGIGKEGKN NKWKNV	<i>E. faecalis</i> BEF 1071
Enterosin RJ-11	IIC	APAGLVAKFGRPIVKKYYKQIMQFIGEGSAI NKIIPQWIARMWRT	<i>E. faecalis</i> RJ-11
Enterolislin A	III	ASNEWSWPLGKPYAGRYEEGQQFGNTAFN RGGTYQFHDGDFGSAIYGNNGSVYAVHDG KILYAGWDPVGGQGS LGAFIVLQAGNTNVI YQEF SRNVGDIKVSTGQTVQKKGQLIGKFTS SHLHLGMTKKEWRS AHSSWNKD...	<i>E. faecalis</i> LMG 2333

Farklı kaynaklardan izole edilen bakteriyosin üreticisi *Enterococcus* suşları Çizelge 2.6'da gösterilmektedir.

Çizelge 2.6. Farklı kaynaklardan izole edilen bakteriyosin üreticisi *Enterococcus* suşları (Foulquie Moreno ve ark. 2006, Kumar ve ark. 2011^a)

Kaynak	Suş
İnsan	<i>E. faecalis</i> S-48 <i>E. faecium</i> YI717 <i>E. faecium</i> RC714
Su	<i>E. faecalis</i> EJ97
Sebzeler	<i>E. faecalis</i> 226 <i>E. faecium</i> BFE 900 <i>E. mundtii</i> ATO6 <i>E. faecium</i> 6T1a
Süt ürünleri	<i>E. faecium</i> DPC1146 <i>E. faecium</i> 7C5 <i>E. faecium</i> RZS C5 <i>E. faecalis</i> INIA 4 <i>E. faecium</i> CRL 35 <i>E. faecium</i> WHE 81 <i>E. faecalis</i> FAIR-E 309 <i>E. faecium</i> FAIR E-198
Fermente sosisler	<i>E. faecium</i> L1 <i>E. faecium</i> CTC492 <i>E. faecalis</i> EFS2 <i>E. faecium</i> T136 <i>E. faecium</i> P13 <i>E. faecium</i> L50 <i>E. faecium</i> AA13 <i>E. faecium</i> G16 <i>E. faecium</i> P21 <i>E. casseliflavus</i> IM 416K1
Diğer fermente gıdalar	<i>E. faecium</i> N15 <i>E. faecium</i> B1 <i>E. faecium</i> B2
Su ürünleri ^a	<i>E. faecium</i> MC13

Enterosinler, diğer bakteriyosinler gibi, hücre membranında porlar oluşturarak elzem hücre içi moleküllerin sızıntısına neden olmakta ve böylece transmembran potansiyelini ve/veya pH gradyanını bozmaktadırlar. Enterosinler, et ürünlerinde ve diğer birçok gıda ürününde *L. monocytogenes*'in gelişiminin ve laktik asit bakterileri tarafından üründe yapışkan tabaka oluşumunun önlenmesinde kimyasal koruyuculara alternatif olarak kullanılabilir. Genellikle *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *Leuconostoc* spp., *E. coli*, *Lactobacillus* spp., *S. aureus*, *Clostridium* spp., *V. cholerae*, *Lactococcus* spp., *A. acidoterrestris*, *Bacillus* spp., *Lactococcus* spp. ve *Pediococcus* spp. gibi bakterilere karşı

antimikrobiyel aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir (McAuliffe ve ark. 2001, Koponen 2004, Foulque Moreno ve ark. 2006, Bilgin 2008, Avcı 2015, Uludağ 2015).

Enterosinlerin, pepsin, tripsin, proteinaz K, α -kimotripsin gibi proteazlarla aktivitelerini kaybetmelerinin yanı sıra katalaz, amilaz ve lipaz enzimlerine karşı dayanıklı oldukları belirlenmiştir. Geniş pH aralıklarında aktivite göstermelerine rağmen düşük pH'larda daha fazla aktif oldukları belirlenmiştir. Buzdolabı koşullarına, yüksek sıcaklık (100°C) uygulamalarına ve liyofilizasyon işlemine karşı dayanıklı oldukları saptanmıştır (İşleroğlu 2006, Bilgin 2008, Avcı 2015).

2.5.1. Enterosin A

Enterosin A'nın *E. faecium* CTC492, *E. faecium* DPC1146, *E. faecium* P21, *E. faecium* TI36, *E. faecium* EFM01, *E. faecium* MMT21 gibi birçok farklı enterokok suşu tarafından üretildiği belirtilmiştir (Aymerich ve ark. 1996, Casaus ve ark. 1997, O'Keeffe ve ark. 1999, Ennahar ve Deschamps 2000, Herranz ve ark. 2001, Ghrairi ve ark. 2008). Enterosin A, grup Ila (pediosin benzeri) bakteriyosinleri sınıfına dahil, 4829 Da moleküler ağırlığa sahip, 47 amino asit kalıntısı ile dört sistein kalıntısının oluşturduğu disülfid köprüsü ve N-uç zincirinde YGNGV konsensus serisini içermektedir. (Aymerich ve ark. 1996, Casaus ve ark. 1997, O'Keeffe ve ark. 1999). Enterosin A'nın logaritmik fazın sonuna doğru maksimum seviyede üretildiği belirlenmiştir. Geniş pH aralığında (pH 2-11) aktivite gösteren Enterosin A, 20 dk süre ile 80-100°C ısı uygulamasına, liyofilizasyona, dondurma-çözdürme işlemine, -20°C'de depolamaya karşı dayanıklıdır. Ayrıca tripsin, pronaz E ve proteinaz K gibi proteolitik enzimlerle aktivitesini kaybetmekte lipaz ve α -amilaz gibi enzimlere karşı aktivitesini korumaktadır (Ennahar ve Deschamps 2000, Herranz ve ark. 2001, Ghrairi ve ark. 2008). Gram negatif bakterilere karşı etki göstermeyen enterosin A, *C. botulinum*, *C. sporogenes*, *C. tyrobutyricum*, *Propionibacterium* spp., *B. cereus*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* gibi birçok Gram pozitif bakteriye karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Casaus ve ark. 1997, Ennahar ve Deschamps 2000, Herranz ve ark. 2001, Ghrairi ve ark. 2008).

2.5.2. Enterosin B

Enterosin B'nin, *E. faecium* T136, *E. faecium* MMT21, *E. faecalis* MYE58 gibi bazı *E. faecium* suşları tarafından sentezlendiği bilinmektedir (Casaus ve ark. 1997, Ghrairi ve ark. 2008, Tuncer ve ark. 2014). Karnobakteriyosin A ile güçlü homoloji gösteren Enterosin B sınıf IIa (pediosin benzeri) bakteriyosinler sınıfına ait değildir ve pediosin benzeri bakteriyosinlerde görülen YGNGV aminoasit dizisini içermemektedir. Ancak lider peptitleri ve C terminalindeki dizi benzerlikleri dolayısıyla pediosin benzeri bakteriyosin ailesi ile ilişkili oldukları düşünülmektedir (Casaus ve ark. 1997). 5463,8 Da moleküler ağırlığa sahip ve pH 2,0-10,0 aralığında aktivite gösteren Enterosin B'nin pronaz E, tripsin ve proteinaz K gibi proteolitik enzimlere karşı duyarlı, 100°C'de 15 dakika süreyle ısıtılma dirençli olduğu belirtilmektedir (Ghrairi ve ark. 2008). Gıdalarda bozulmaya ve gıda intoksikasyonlarına yol açan gıda kaynaklı patojen bakterilerden *E. faecalis*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* ve *L. innocua*'ya karşı inhibitör aktivite göstermektedir (Ghrairi ve ark. 2008, Tuncer ve ark. 2014).

2.5.3. Enterosin C

Enterosin C, insan kolostrumundan izole edilen *E. faecalis* C901 suşu tarafından üretilen grup IIb üyesi bir bakteriyosindir. Enterosin C, C1 ve C2 olarak adlandırılan ve sinerjik antimikrobiyal aktivite gösteren iki farklı peptitten oluşmaktadır. Enterosin C1 ve C2'nin molekül ağırlıkları sırasıyla 4284 ve 3867 Da olarak tespit edilmiştir. Enterosin C'nin, bu çalışmada kullanılan *Actinomyces neuii* FR1543, *E. faecalis* C301, *E. faecalis* L1443, *E. faecalis* EV1444, *E. faecalis* FR1441, *E. faecalis* FR1542, *E. faecium* C656, *Facklamia hominis* EV1443, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* MG1363, *Lc. lactis* subsp. *diacetylactis* IPLA838, *Lc. lactis* subsp. *lactis* IL1403, *Lb. sakei* NCFB 2714, *Lactobacillus paracasei* C1351, *Lb. paracasei* C1352, *Leuconostoc mesenteroides* C1353, *Propionibacterium acnes* P1544, *P. acnes* SC1441, *P. acnes* SC1544b, *Staphylococcus caprae* FR1541a, *S. epidermidis*, *Streptococcus anginosus* EV1442 ve *Streptococcus intermedius* LA1443 suşlarına karşı inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Enterosin C1 ve C2'nin amino asit sekans analizi sonucu enterosin C1'in *E. faecalis* BFE1071 tarafından üretilen enterosin 1071A'nın N-uç bölgesindeki ilk 10 amino asit ile % 100 homoloji gösterdiği enterosin 1071B'nin sekansında ise enterosin C2'den bir amino asit farklı olduğu belirlenmiştir.

Enterosin 1071B'de 17. pozisyonda treonin bulunurken enterosin C2'de 17. pozisyonda alanin bulunmaktadır (Maldonado Barragan ve ark. 2009).

2.5.4. Enterosin P

Enterosin P, İspanyol fermente sosisinden izole edilen *E. faecium* P13 suşu tarafından sentezlenmektedir. Amino asit sekans analizine göre enterosin P'nin 5-9 pozisyon aralığında Grup IIa'yı oluşturan pediyosin benzeri bakteriyosinlerin yapısında bulunan YGNGV dizisine sahip olduğu ve genel salgılanma yoluyla sentezlendiği belirlenmiştir. Molekül ağırlığının 4493 Da olduğu saptanmıştır. Enterosin P gıda kaynaklı patojen bakteriler olan *L. monocytogenes*, *C. perfringens*, *C. botulinum* ve *S. aureus* gibi birçok Gram pozitif bakteriyi içeren geniş bir antibakteriyel etki spektrumuna sahiptir. pH 2,0-11,0 aralığında aktivite gösteren Enterosin P'nin 100°C'de 60 dakika ve 121°C'de 15 dakika ısıtma işlemi, liyofilizasyona, dondurma ve çözündürme işlemlerine, 4 ve -20°C'de uzun süreli depolamaya karşı dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Cintas ve ark. 1997).

2.5.5. Enterosin L50

Enterosin L50, *E. faecium* L50 suşu tarafından üretilen Grup IIb üyesi, iki bileşenli (L50A ve L50B) bir bakteriyosindir. Enterosin L50 (EntL50A ve EntL50B) 50 kb büyüklüğünde pCIZ1 plazmiti üzerinde kodlanmakta ve N terminal lider dizisi veya sinyal peptidi olmadan sentezlenmektedir. Enterosin L50A ve L50B'nin molekül ağırlıkları sırasıyla 5190 Da ve 5178 Da'dır. Enterosin L50A ve L50B'nin gıda kaynaklı patojenlerden *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *C. perfringens*, *C. botulinum*'a ayrıca insan ve hayvanlarda enfeksiyona neden olan *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus parasanguis* ve *Streptococcus agalactiae* türlerine karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği bilinmektedir (Cintas ve ark. 1998, Cintas ve ark. 2000).

2.5.6. Enterosin I

Enterosin I, İspanyol tipi fermente yeşil zeytinden izole edilen *E. faecium* 6T1a suşu tarafından üretilmektedir. 44 amino asitten oluşan enterosin I'nın moleküler ağırlığı 5 kDa'dur. Enterosin I üretimi, *E. faecium* 6T1a suşunda bakteriyosin üretimi ve bağışıklık genlerinin pEF1 plazmiti üzerinde kodlu olduğu belirlenmiştir. Enterosin I diğer pediyosin benzeri enterosinlerden farklı olarak (enterosin B ve karnobakteriyosin A hariç) N terminalinde yaygın olarak görülen YGNGV motifini ve diğer pediyosin benzeri bakteriyosinlerde mevcut olan sistein kalıntısını içermemektedir. Enterosin I 100°C'de 5 dakika ısıtma işlemine karşı dirençli olup otoklavlama sonucu aktivitesini kaybetmektedir. Ayrıca α -kemotripsin, pronaz E, proteinaz K, subtilopektidaz A, termolisin ve tripsin enzimlerine karşı duyarlı olduğu, α -amilaz, katalaz, fisin, lizozim ve RNaz A enzimleri ile muamele sonucu aktivitesini kaybetmediği tespit edilmiştir. Enterosin I zeytin fermentasyonunda doğal olarak bulunan *Lactobacillus* spp., *Lc. lactis* ve *Pediococcus pentosaceus* suşlarına, zeytinde bozulmaya sebep olan Gram pozitif bakterilerden *Propionibacterium* spp., *Clostridium* spp. ve *Bacillus* spp. suşlarına, zeytin fermentasyonunu yaygın olarak kontamine eden *E. faecalis*'e, *L. innocua* ve *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermekte ancak Gram negatif bakterilerden *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp. ve *E. coli* Enterosin I'dan etkilenmemektedir (Floriano ve ark. 1998).

2.5.7. Enterosin 1071

Arjantin peynirinden izole edilen *E. faecalis* FAIR-E 309 ve minyatür domuz dışkılarından izole edilen *E. faecalis* BFE 1071 suşları tarafından üretilen enterosin 1071, grup IIb üyesi iki bileşenli (1071A ve 1071B) bir bakteriyosindir. Sırasıyla 39 ve 34 amino asit içeren Enterosin 1071A ve 1071B'nin molekül ağırlıkları sırasıyla 4285 ve 3899 Da'dur. 100°C'de 60 dakika ısıtma işlemine karşı dirençliken 121°C'de 15 dakikada aktivitesinin %50'sini kaybetmektedirler. Enterosin 1071A ve 1071B genleri 50 kb büyüklüğündeki pEF1071 plazmiti üzerinde kodlanmaktadır. pH 3,0-12,0 aralığında aktivitesini koruyan Enterosin 1071A ve 1071B pepsin, tripsin, α -kemotripsin, papain, pronaz ve proteinaz K gibi proteolitik enzimler ile muamele sonucunda aktivitesini kaybetmekte ve *C. tyrobutyricum*, *Lb. salivarius*, *L. innocua*, *Micrococcus* spp. ve *Enterococcus* spp. gibi

Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyel aktivite göstermektedir (Balla ve ark. 2000, Franz ve ark. 2002, Maldonado Barragan ve ark. 2009).

2.5.8. Enterosin FH 99

Enterosin FH 99, *E. faecium* FH 99 suşu tarafından sentezlenen grup II üyesi bir bakteriyosindir. Enterosin FH 99, pH 2,0-10,0 aralığında aktivitesini korumaktadır. Molekül ağırlığı 5 kDa'dur. Proteinaz K, papain, tripsin, pronaz E, fisin, kimotripsin ve proteaz I enzimlerine karşı duyarlı olup rennin, amilaz, lipaz ve katalaz enzimlerinden etkilenmemektedir. Enterosin FH 99, 100°C'de 60 dakika, 121°C'de 15 dakika gibi yüksek derecelerde sıcaklık uygulamalarında aktivitesini kaybetmemektedir. *L. monocytogenes* ve bazı *S. aureus* suşlarına karşı inhibitör etki gösterdiği bilinmektedir (Gupta ve ark. 2010).

2.5.9. Enterokoksin EFS2

Enterokoksin EFS2, peynirden izole edilen *E. faecalis* EFS2 suşu tarafından sentezlenmektedir. *L. innocua* LIN11 suşuna, bazı *Staphylococcus aureus* ve *Leuconostoc* suşlarına karşı inhibitör aktivite gösterdiği, Gram negatif bakterilere karşı ise inhibitör aktivitesinin olmadığı belirlenmiştir. 7146,4 Da molekül ağırlığına sahip Enterokoksin EFS2, pH 4,5-9,0 aralığında aktivite göstermekte ve 67 amino asit dizisi içermektedir (Maisnier Patin ve ark. 1996).

2.5.10. Enterosin HJ35

Enterosin HJ35, *Propionibacterium acnes*'e karşı aktivite gösterdiği için akne tedavisinde antimikrobiyal ajan olarak kullanılan ve insan derisinden izole edilen *E. faecium* HJ35 suşu tarafından üretilen bir bakteriyosindir. Gram pozitif bakterilerden *Enterococcus* spp., *S. aureus*, *S. epidermitis*, *B. subtilis*, *L. mesenteroides*, *C. perfringens*, *Micrococcus flavus*, *L. monocytogenes*, *L. ivanovi*, *P. acnes*'e, Gram negatif bakterilerden ise *E. coli*, *Pseudomonas cepacia* ve *Pseudomonas fluorescens*'e karşı inhibitör aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Enterosin HJ35'in proteaz XIV uygulaması ile aktivitesini tamamen kaybettiği ancak pepsin A, α -kimotripsin, β -kimotripsin, α -amilaz ve ribonükleaz A

enzimlerinden etkilenmediği belirlenmiştir. pH 3,0-9,0 aralığında aktivite göstermektedir. Yaklaşık 4-4,5 kDa molekül ağırlığına sahip Enterosin HJ35, 100°C’de 30 dakika ısıtma ve organik solvent uygulamalarına karşı aktivitesini korumaktadır (Yoon ve ark. 2005).

2.5.11. Enterosin LM-2

Enterosin LM-2, *E. faecium* LM-2 suşu tarafından sentezlenmektedir. *Listeria*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Salmonella* ve *Pseudomonas* cinslerine ve özellikle en çok test edilen gıda kaynaklı patojenlerden *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis* ve *E. coli*’ye karşı inhibitör aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Enterosin LM-2 α -amilaz ve lizozim gibi enzimlere karşı aktivitesini korumakta ancak pepsin, proteinaz K, tripsin ve papain gibi proteolitik enzimlerle aktivitesini kaybetmektedir. 80°C’de 30 dakika, 100°C’de 15 dakika ve 121°C’de 15 dakika ısıtma uygulamasında aktivitesini koruduğu görülmektedir. pH 2,0-12,0 arasında aktivite gösteren Enterosin LM-2’nin 3,5 ve 6,4 kDa büyüklüğünde iki aktif protein bandı içerdiği belirlenmiştir (Liu ve ark. 2011).

2.5.12. Enterosin HZ

Enterosin HZ, *E. faecium* HZ tarafından sentezlenmektedir. Papain ve tripsin enzimlerine karşı duyarlı ancak pepsin, lipaz, katalaz, α -amilaz, organik solventler, deterjanlar, β -merkaptenole ve 90°C’de 30 dakika ısıtma uygulamasına karşı aktivitesini korumaktadır. pH 2,0-9,0 aralığında aktivite gösteren Enterosin HZ’nin molekül ağırlığı yaklaşık 4,5 kDa olarak belirlenmiştir. Enterosin HZ *Lb. plantarum*, *Lc. lactis*, *Lc. cremoris*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *L. mesenteroides*, *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* ve *B. cereus*’a karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Bakteriyosin üretimi orta ve geç logaritmik fazda maksimum seviyeye ulaşmaktadır (Yildirim ve ark. 2014).

2.5.13. Enterosin EFS100

Enterosin EFS100, *E. faecalis* EFS100 suşu tarafından üretilmektedir. Enterosin EFS100’ün, 60°C’de 60 dakika, 80°C’de 40 dakika, 100°C’de 30 dakika ve 121°C’de 15

dakika ısıtma işlemi uygulamasında aktivitesini koruduğu görülmektedir. Aktivite kaybı görülmesizin 4°C’de 2 ay depolanabilmektedir. pH 5,0-8,5 aralığında aktivite gösteren Enterosin EFS100’ün, α -kemotripsin ve pronaz E ile muamele edilmesi sonucu aktivitesini tamamen, tripsin ile muamele sonucu aktivitesini kısmen kaybettiği, katalaz, fisin, lizozim, pepsin A ve kloroform ile muamele edilmesi sonucu ise aktivitesini koruduğu görülmektedir. Bakteriyosin üretimi pESF100 plazmiti üzerinde kodlu olmakla birlikte erken logaritmik fazda başlayıp erken durma fazında maksimum seviyeye ulaşmaktadır. Enterosin EFS100, Gram pozitif bakterilerden *Corynebacterium diphtheriae*, *Lb. acidophilus*, *Micrococcus lysodieticus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus equi*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*’e ve Gram negatif bakterilerden *Neisseria meningitidis* ve *Xanthomonas maltophilia*’ya karşı inhibitör aktivite göstermektedir (Ahmad ve ark. 2004).

2.5.14. Enterosin KP

Enterosin KP, *E. faecalis* KP tarafından sentezlenmektedir. pH 2,0-8,0 aralığında aktivite gösteren Enterosin KP 5,8 kDa molekül ağırlığına sahiptir. Enterosin KP’nin, papain, β -merkaptotanol ve 110°C ve 121°C’de 15 dakika ısıtma işlemi karşı duyarlı ancak tripsin, pepsin, lipaz, α -amilaz, pankreatin, organik çözücüler, deterjanlar, EDTA’ya ve 90°C’de 30 dakika ısıtma işlemi karşı dirençli olduğu görülmektedir. Ek olarak, hücre içermeyen süpernatantlar liyofilizasyon işlemi ve (-20)-(-80)°C’de 2 ay süreli depolama sonrasında aktivitesini korumakta ancak buzdolabı koşullarında 2 ay depolama sonucu aktivitesinin %50’sini kaybetmektedir. Enterosin KP *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *Lb. plantarum*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. dissidens*, *Lc. cremoris*, *Lc. lactis*, *L. mesenteroides*, *B. cereus*, *B. subtilis*’e karşı inhibitör aktivite gösterdiği belirlenmiştir (İsleroglu ve ark. 2012).

2.5.15. Enterosin M

Enterosin M, *Enterococcus faecium* AL41 suşu tarafından sentezlenmektedir. Güçlü antilisterial etkiye sahip Grup II-a pediyosin benzeri bakteriyosinlere üyedir. *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *S. aureus*, *Staphylococcus vitulinus*,

Staphylococcus xylosus, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus gallinarum*, *Micrococcus luteus*, *Lb. pantarum*, *Lb. curvatus*, *Lb. sakei*, *C. piscicola*, *B. cereus*, *L. innocua*, *L. monocytogenes* ve *E. coli*'ye karşı inhibitör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Molekül ağırlığı 4628 Da olan Enterosin M, 60, 80 ve 100°C'de 1 saat süreyle ısıtılma ve +4 ve -20°C'de uzun süreli depolama koşullarına karşı aktivitesini korumaktadır. Ancak proteaz uygulaması sonucu aktivitesini tamamen kaybetmiştir (Marekova ve ark. 2007).

2.5.16. Enterosin MC13

Enterosin MC13, bir tür kefal cinsi olan *Mugil cephalus*'un bağırsağından izole edilen *E. faecium* MC13 suşu tarafından sentezlenmektedir. Enterosin MC13 tripsin, proteaz ve kemotripsin gibi proteolitik enzimlerle muamele sonucunda aktivitesini kaybetmekte ancak katalaz ve lipaz enzimlerinden etkilenmemektedir. Enterosin MC13 90°C'de 20 dakika ısıtılma direnç göstermektedir. Molekül ağırlığı 2148 Da olan Enterosin MC13, su ürünleri kaynaklı patojenlerden *L. monocytogenes*, *V. parahaemolyticus* ve *V. vulnificus*'a karşı inhibitör aktivite göstermektedir. Su ürünlerinde *L. monocytogenes*'e karşı biyokoruyucu olarak kullanılabilceği düşünülmektedir (Kumar ve ark. 2011).

2.5.17. Enterosin RJ-11

Enterosin RJ-11, *E. faecalis* RJ-11 suşu tarafından sentezlenmektedir. Molekül ağırlığı 5 kDa olup 44 amino asitten oluşmaktadır. Bakteriyosin üretiminin erken durma fazında maksimum seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Enterosin RJ-11 proteaz ve proteinaz K enzimleri ile aktivitesini tamamen kaybetmekte, α -kemotripsin, tripsin ve pepsin enzimleri ile muamele sonucu aktivitesinde azalma gözlenmektedir ancak papain enziminden etkilenmemektedir. pH 2-12 aralığında, 100°C'de 15 ve 30 dakika ısıtılma uygulamalarına karşı aktivitesini korumaktadır. Enterosin RJ-11, *L. monocytogenes*, *B. subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *S. aureus*, *E. durans*, *L. mesenteroides* ve *Lc. lactis* türlerine karşı inhibitör aktivite göstermekte ancak *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *Salmonella enterica* serovar Typhimurium'a karşı aktivite göstermemektedir. Şekil 2.6'da görüldüğü üzere Enterosin RJ-11' in amino asit dizilimi enterosin L50A ve

L50B'nin amino asit dizilimi ile yüksek oranda benzerlik göstermektedir (Yamamoto ve ark. 2003).

enterocin RJ-11	A	P	A	G	L	V	A	K	F	G	R	P	I	V	K	Y	Y	K	Q	I	M	Q	F	I	G	E	G	S	A	I	N	K	I	I	P	W	I	A	R	M	W	R	T
enterocin L50A	M	G	A	I	A	K	L	V	A	K	F	G	W	P	I	V	K	Y	Y	K	Q	I	M	Q	F	I	G	E	G	W	A	I	N	K	I	I	E	W	I	K	K	H	I
enterocin L50B	M	G	A	I	A	K	L	V	T	K	F	G	W	P	L	I	K	K	F	Y	K	Q	I	M	Q	F	I	G	Q	G	W	T	I	D	Q	I	E	K	W	L	K	R	H

Şekil 2.6. Enterosin RJ-11, Enterosin L50A ve Enterosin L50B'nin amino asit dizilimlerinin karşılaştırılması (Yamamoto ve ark. 2003)

2.5.18. Enterosin CRL35

Enterosin CRL35'in, önce *E. faecium* CRL35 olarak tanımlanan daha sonra *E. mundtii* CRL35 olarak adlandırılan enterokok suşu tarafından sentezlendiği bilinmektedir. *L. monocytogenes*'e ve Herpes simplex virüsüne (tip I ve tip II) karşı antimikrobiyel aktivite göstermektedir. Enterosin CRL35'in, gıdalarda koruyucu olarak kullanımının yanı sıra antibiyotiklerle birlikte oluşturduğu sinerjistik etki nedeniyle klinik uygulamalarda da kullanımı mümkün olmaktadır (Wachsmann ve ark. 1999, Minahk ve ark. 2000, Masias ve ark. 2014, Avcı 2015).

2.5.19. Enterosin ON-157

Enterosin ON-157, *E. faecium* NIAI 157 suşu tarafından sentezlenmektedir. 2,5 kDa molekül ağırlığına sahip Enterosin ON-157 üretimi, logaritmik gelişme fazında maksimum seviyeye ulaşmakta ve sırasıyla 49 kb ve 43,7 kb büyüklüğündeki pEN100 ve pEN200 plazmitleri üzerine kodlanmaktadır. Enterosin ON-157 α -kimotripsin, pepsin ve α -amilaz enzimleri ile muamele sonucu aktivitesini kaybetmekte ancak pronaz, tripsin ve α -glukozidaz enzimleri ile muamele sonucu aktivitelerinde azalma görülmektedir. pH 2,0-7,0 aralığında 30°C'de 1 saat ısı işlem uygulaması sonucu aktivitesini korumakta ancak pH 6,0-7,0 aralığında 100°C'de 30 dakika ısı işlem uygulaması sonucu aktivitesini kaybetmektedir. Enterosin ON-157'nin *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. hirae*, *Lb. sake* ve *L. monocytogenes*'e karşı güçlü, *L. mesenteroides*, *P. acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Lb. plantarum*'a karşı zayıf antimikrobiyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Ohmomo ve ark. 2000).

2.5.20. Enterosin T

Enterosin T, *Enterococcus* sp. 812 tarafından sentezlenen sınıf IIa üyesi bir bakteriyosindir. N-uç bölgesinde YGNGV amino asit dizisini içermektedir. Molekül ağırlığı yaklaşık olarak 4521,3 Da olarak bulunmuştur. *L. monocytogenes*, *Lb. sakei* subsp. *sakei*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Enterosin T'nin 121°C'de 15 dk otoklavlanması sonucu aktivitesinde azalma görülürken proteinaz K enzimi ile muamelesi sonucunda aktivitesini tamamen kaybettiği tespit edilmiştir (Chen ve ark. 2013).

2.5.21. Enterosin TW21

Enterosin TW21, *E. faecium* D081821 suşu tarafından sentezlenmektedir. Grup IIa bakteriyosinlere üyedir. N uç bölgesinde YGNGV amino asit dizisini içermektedir. Molekül ağırlığı yaklaşık 5300,6 Da olarak belirlenmiştir. Bakteriyosinin sentezinde 76 amino asit kalıntısı içeren öncü peptit modifikasyona uğrayarak 48 amino asit kalıntısı içeren olgun peptide dönüşmektedir. Amino asit dizi analizi sonucu enterosin TW21'in amino asit diziliminin enterosin SE-K4, hirasin JM79 ve durasin GL ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. *L. monocytogenes*, *C. perfringens* ve *Sporolactobacillus kofuensis*'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Chang ve ark. 2013).

2.5.22. Enterosin Q

Enterosin Q, *E. faecium* L50 tarafından sentezlenmektedir (Criado ve ark. 2006). 3980 Da molekül ağırlığına sahip Enterosin Q'nun amino asit dizilimi enterosin L50A ve enterosin L50B ile benzerlik göstermektedir (Cintas ve ark. 2000). Enterosin Q, grup IIc bakteriyosinleri sınıfına üyedir (Criado ve ark. 2006, Basanta ve ark. 2008). Enterosin Q'nun biralarda bozulmaya neden olan *Lactobacillus brevis* ve *Pediococcus damnosus* ile *C. botulinum*, *C. perfringens*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği saptanmıştır (Basanta ve ark. 2008).

2.5.23. Sitolisin

Sitolisin, bazı *E. faecalis* suşları tarafından sentezlenmekte ve Sınıf I Lantibiyotikler içerisinde yer almaktadır (Gilmore ve ark. 1994, Shankar ve ark. 2004, Van Tyne ve ark. 2013). Sitolisin üretiminden sorumlu genler ya kromozomal olarak kodlanmış 150 kb büyüklükte olan patojenite adası içinde (PAI) ya da konjüгатif, feromona duyarlı plazmidler üzerinde bulunmaktadır (Shankar ve ark. 2004, Van Tyne ve ark. 2013). Antimikrobiyal aktivitesinin yanı sıra hemolitik aktivite de göstermektedir. Ökaryot organizmalar ve Gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olmasına rağmen virülens faktör olarak kabul edildiğinden dolayı antimikrobiyel ajan olarak kullanılamamaktadır (Jett ve ark. 1994, Poeta ve ark. 2007).

2.5.24. Enterosin W

Enterosin W, geleneksel Thai fermente balığı Pla-ra'dan izole edilen *E. faecalis* NKR-4-1 suşu tarafından sentezlenmektedir. W α ve W β olarak adlandırılan iki peptitten oluşan bir lantibiyotik olarak tanımlanmaktadır. Enterosin W α ve enterosin W β 'nin molekül ağırlıkları sırasıyla 3256,5 ve 2728,6 Da olarak belirlenmiştir. Ayrıca Enterosin W α 'nın 21, enterosin W β 'nin ise 18 amino asit kalıntısı içerdiği tespit edilmiştir. Enterosin W α ve enterosin W β 'nin, *Bacillus coagulans*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lc lactis* subsp. *lactis*, *Lb. sakei* subsp. *sakei*'e karşı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Sawa ve ark. 2012).

2.5.25. Enterosin 96

Enterosin 96, *E. faecalis* WHE 96 suşu tarafından sentezlenmektedir. Sınıf II bakteriyosinlere üyedir. Molekül ağırlığı yaklaşık 5494 Da olarak hesaplanmıştır. Özellikle *E. faecalis* olmak üzere birçok *Enterococcus* türüne, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* gibi Gram pozitif bakterilere karşı güçlü, *E. coli* ve *Salmonella enterica* seovar. Typhimurium gibi Gram negatif bakterilere karşı ise zayıf antimikrobiyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Izquierdo ve ark. 2009).

2.5.26. Enterosin 416K1

Enterosin 416K1, *E. casseliflavus* IM 416K1 suşu tarafından sentezlenen grup IIa bakteriyosinlerindedir. Molekül ağırlığının 5 kDa'dan küçük olduğu tespit edilmiştir. 90°C'de 120 dakika ısıtma ve 4°C'de 6 ay depolamaya karşı direnç göstermektedir. *E. faecalis*'in bazı suşlarına ve *Listeria* spp.'ne karşı inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Bakteriyosin üretimi ve bağışıklık genleri 34 MDa büyüklüğünde bir plazmit tarafından kodlanmaktadır (Sabia ve ark. 2002).

2.5.27. Bakteriyosin ST5Ha

Bakteriyosin ST5Ha, Norveç dumanlanmış somon etinden biyomoleküler tekniklerle izole edilen *E. faecium* ST5Ha suşu tarafından sentezlenmektedir. Bakteriyosin ST5Ha'nın bazı laktik asit bakterilerine, *Listeria* türlerine ve HSV-1 virüsüne karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Molekül ağırlığı yaklaşık 4,5 kDa olarak tespit edilen Bakteriyosin ST5Ha'nın lipaz ve α -amilaz enzimlerine karşı direnç gösterirken, proteinaz K ve α -kimotripsin enzimleri tarafından inaktive edildiği belirlenmiştir (Todorov ve ark. 2010).

2.5.28. Bakteriyosin ST15

Bakteriyosin ST15, *E. mundtii* ST15 suşu tarafından sentezlenmektedir. 3944 Da molekül ağırlığına sahip Bakteriyosin ST15, pH 2,0-12,0 arasında aktivite göstermektedir. Bakteriyosin ST15 pepsin, pronaz, proteaz, proteinaz K ve triton X-114 uygulamaları sonucu aktivitesini kaybetmekte ancak α -amilaz, katalaz, triton X-100, tween 20, tween 80, üre, SDS ve EDTA uygulamalarından etkilenmemektedir. 100°C'de 90 dakika ısıtma işlemine direnç göstermekte ancak 121°C'de 20 dakika ısıtma işlemine karşı aktivitesini koruyamamaktadır. Bakteriyosin ST15, *B. cereus*, *C. tyrobutyricum*, *E. faecalis*, *Lb. sakei*, *Propionibacterium* spp., *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus caprinus*'a karşı inhibitör etkili olduğu belirlenmiştir (De Kwaadsteniet ve ark. 2005).

2.5.29. Bakteriyosin T8

Bakteriyosin T8, *E. faecium* T8 tarafından sentezlenmektedir. Sınıf IIa bakteriyosinlere üye olan Bakteriyosin T8'in moleküler ağırlığı 5,1 kDa'dur. pH 4,0-10,0 aralığında aktivite göstermekte ve 100°C'de 60 dakika ısıl işleme karşı aktivitesini korumaktadır. Pepsin, pronaz ve proteinaz K enzimlerine karşı aktivitesini kaybederken amilaz enziminden etkilenmemektedir. Bakteriyosin T8 üretimini kodlayan genler 7 kb büyüklüğündeki T8 plazmiti üzerine kodlanmaktadır. Bakteriyosin T8'in, *Propionibacterium* spp., *Lb. sakei* ve *E. faecalis*'in bazı suşlarına karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (De Kwaadsteniet ve ark. 2006).

2.5.30. Bakteriyosin GM-1

Bakteriyosin GM-1 *E. faecium* GM-1 suşu tarafından sentezlenmektedir. Bakteriyosin üretimi optimum olarak 35-40°C'de pH 6,0-6,5 aralığında gerçekleşmektedir. Bakteriyosin nötral pH koşullarında 100°C'de 20 dakika ısıl işleme karşı aktivitesini korumaktadır. Bakteriyosin GM-1'in enterosin P ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bakteriyosin GM-1'in, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp., *Salmonella typhimurium*, *L. monocytogenes*, *Lb. acidophilus* ve *S. thermophilus*'a karşı inhibitör etkili olduğu belirlenmiştir (Kang ve Lee 2005).

2.5.31. Enterosin 62-6

Enterosin 62-6, *E. faecium* 62-6 suşu tarafından sentezlenmektedir. pH ve ısıya dirençli, kationik, hidrofobik, iki peptitten (62-6A ve 62-6B) oluşan sınıf IIc bakteriyosinlerindedir. Enterosin 62-6A ve enterosin 62-6B'nin molekül ağırlıkları sırasıyla 5206 ve 5219 ±1 Da olarak hesaplanmış olup sırasıyla 44 ve 43 amino asit içerdiği belirlenmiştir. pH 4,0-8,0 aralığında aktivite gösteren Enterosin 62-6, pepsin ve α-kimotripsin enzimleriyle muamele sonucu aktivitesini kaybederken, lizozim, proteinaz K ve lipaz enzimlerinden etkilenmemektedir. Enterosin 62-6, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Corynebacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp.'ne karşı inhibitör aktivite göstermektedir (Dezwaan ve ark. 2007).

2.5.32. Enterosin 81

Enterosin 81, *E. faecium* WHE81 suşu tarafından sentezlenmektedir. *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *E. faecium*, *E. hirae* ve *Lb. plantarum*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. α -kimotripsin, fisin, pepsin, pronaz E, proteinaz K ve tripsin enzimlerine karşı aktivitesini kaybetmekte ancak α -amilaz, lipaz ve katalaz enzimlerinden etkilenmemektedir (Ennahar ve ark. 1998).

2.5.33. Enterosin 1146

Enterosin 1146, *E. faecium* DPC 1146 suşu tarafından sentezlenmekte olup *L. monocytogenes* ve *L. innocua*'ya karşı inhibitör aktivite göstermektedir. Pepsin, tripsin, pronaz E, proteinaz K ve α -kimotripsin enzimleriyle inaktive olmakta ancak katalaz enziminden etkilenmemektedir. 3 kDa molekül ağırlığına sahip olan Enterosin 1146, -20°C'de aktivitesini kaybetmeden depolanabilmektedir (Parente ve Hill 1992).

2.5.34. Enterosin AS-48

Enterosin AS-48, farklı kaynaklardan izole edilen *E. faecalis* AS-48-32 ve bazı *E. faecium* suşları tarafından sentezlenmektedir. 7,4 kDa moleküler ağırlığa sahip olup Grup IIc bakteriyosinlere üyedir (Galvez ve ark. 1989, Abriouel ve ark. 1998, Jett ve ark. 1994, Alvarez Cisneros ve ark. 2011, Grande Burgos ve ark. 2014).

Enterosin AS-48, geniş pH aralıklarında, yüksek sıcaklık uygulamalarına ve çeşitli denatüre edici maddelere karşı aktivitesini korumakta ancak tripsin ve pepsin gibi proteolitik enzimler ile aktivitesini kaybetmektedir. Enterosin AS-48'in gıda sistemlerindeki etkinliği kimyasal koruyucular, esansiyel yağlar, fenolik bileşikler, yüksek yoğunluklu elektrik alan uygulaması, yüksek hidrostatik basınç uygulaması gibi fizikokimyasal işlemlerle büyük ölçüde artmaktadır (Grande Burgos ve ark. 2014).

Enterosin AS-48'in, Gram pozitif bakterilerden *Micrococcus* ve *Staphylococcus* suşları daha az duyarlı olmakla birlikte, *Brochothrix thermosphacta* ve *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* cinslerine ait türler ile *B. cereus*, *B. coagulans*,

B. subtilis, *Paenibacillus* spp., *B. licheniformis*, *B. macroides*, *A. acidoterrestris*, *A. acidocaldarius*, *Geobacillus stearothermophilus*, *C. perfringens*, *C. sporogenes* ve *Clostridium tetani* türlerine, Gram negatif bakterilerden ise *Myxococcus*, *Rhizobium* ve *E. coli*'ye karşı inhibitör etkili olduğu belirlenmiştir (Abriouel ve ark. 1998, Grande Burgos ve ark. 2014).

Enterosin AS-48'in kompozisyon analizleri sonucu yüksek oranda temel asidik amino asitleri, % 49 oranında hidrofobik amino asitleri (Ala, Pro, Val, Met, Ile, Leu ve Phe) ve yüksüz hidrofilik amino asitleri (Ser, Gly, Thr ve Tyr) içerdiği görülmektedir. Bakteriyosin toplamda 70 amino asit içermektedir. Ancak modifiye amino asit kalıntıları ve disülfid köprüleri içermemektedir. N uç bölgesinde bulunan metiyonin amino asiti ile C uç bölgesinde bulunan triptofan amino asiti arasında oluşan peptit bağı sayesinde halkasal yapı göstermektedir. Enterosin AS-48'in yapısal genlerinin 35 amino asiti sinyal peptit olmak üzere 105 amino asitten oluşan prepeptitten meydana geldiği tespit edilmiştir (Grande Burgos ve ark. 2014).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Enterokok izolatları

Bu çalışmada, Marmara bölgesinden günlük olarak avlanmış ekonomik öneme sahip taze balık (hamsi, istavrit, barbun, sardalye, sarıkanat, izmarit) ve hazır gıda olarak satışı sunulan (ançuez, lakerda) su ürünü örneklerinin mikrobiyotasında bulunan ve **2150374** nolu **TÜBİTAK** projesi kapsamında izole edilen ve tanımlanan enterokok izolatlarının bir kısmı antimikrobiyel aktivite potansiyelleri yönüyle değerlendirilmiştir. Tez çalışması kapsamında toplam 40 adet izolat çalışılmıştır. İzolatlar gerektiğinde kullanılmak üzere %30'luk steril gliserol çözeltisi içeren Brain Heart Infusion Broth (Merck) besiyerinde stok yapılarak -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Referans suşlar

Staphylococcus aureus ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Enterococcus faecium* M74, *Enterococcus faecalis* NCIMB 700584, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 referans suşları, antibakteriyel etkinin belirlenmesinde test bakterileri olarak kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanması

İzolatların ve test mikroorganizmalarının aktifleştirilmesi amacıyla Brain Heart Infusion broth (BHIB) ve De Man Rogosa Sharpe broth (MRSB), enterokok izolatlarının antimikrobiyel aktivite potansiyelinin belirlenmesi için bu çalışmada kullanılan agar damlatma ve agar diffüzyon tekniklerinde Brain Heart Infusion agar (BHIA) besiyeri kullanılmıştır. Kültürlerin stoklanması amacıyla gliserol çözeltisi ve pH ayarı yapmak amacıyla ise 6N HCl ve 6N NaOH çözeltilerinden yararlanılmıştır.

3.1.3.1. Brain heart infusion broth

500 gramlık kutuda hazır olarak temin edilen toz halindeki besiyeri, belirtilen hazırlama prosedürüne bağlı olarak 37 g/L miktarlarda tartılarak saf su ile sulandırılmış ve 5 mL'lik tüplere dağıtılmıştır. Hazırlanan besiyeri, otoklavda 121°C'de 15 dakikalık sterilizasyon işlemi sonrasında izolatların aktiveştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

3.1.3.2. Brain heart infusion agar

Brain Heart Infusion Broth besiyeri için belirtilen hazırlama prosedürüne uygun olarak hazırlanan besiyerine, % 0,75 (yumuşak agarlı besiyeri hazırlama amacıyla) ve % 1,5 agar ilavesi ile Brain Heart Infusion Agar besiyerleri elde edilmiştir. Hazırlanan besiyerleri otoklavda 121°C'de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işlemi sonrası % 1,5 agar (w/v) içeren besiyeri uygun sıcaklıkta soğutulmuş, % 0,75 agar (w/v) içeren besiyeri ise gerektiğinde test mikroorganizmaları ile karıştırılarak kullanılmıştır.

3.1.3.3. De man rogosa sharpe broth

500 gramlık kutuda hazır olarak temin edilen toz halindeki besiyeri, belirtilen hazırlama prosedürüne bağlı olarak 50 g/L miktarlarda tartılarak saf su ile sulandırılmış ve otoklavda 121°C'de 15 dakikalık sterilizasyon işlemi sonrasında izolatların aktiveştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

3.1.3.4. Gliserol

Kültürlerin stoklanması amacıyla hazırlanan %30'luk gliserol çözeltisi otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.3.5. 6N HCl ve 6N NaOH

$$N = \frac{m \cdot Td}{Ma \cdot V}$$

formülü kullanılarak uygun miktarlarda tartılan HCl ve NaOH saf su ile istenilen hacme tamamlanarak elde edilen çözeltiler otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

N : Normalite

m : Kütle

T_d : Tesir değeri

Ma : Molekül ağırlığı

V :Hacim

3.2. Yöntem

3.2.1. İzolatların antimikrobiyel aktivite potansiyellerinin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan toplam 40 adet enterokok izolatının gıda ve su ürünü kaynaklı patojen ve bozulma etmeni *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *E. faecalis*, *E. faecium* referans bakteri suşlarına ve tez çalışmasında denenen izolatlar arasından her örnekten 1-2 adet olacak şekilde seçilen enterokok suşlarına karşı gösterdikleri antimikrobiyel aktivite potansiyelleri, agar damlatma yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir (Harris ve ark. 1989, Saavedra ve ark. 2003, Hajikhani ve ark. 2007, Ghrairi ve ark. 2008, Özmen Toğay 2010).

Agar damlatma yönteminde, 5 mL BHI broth besiyerinde 37°C'de 24 saat süre ile geliştirilmiş enterokok izolatları 3 µL miktarda petri kutusundaki BHI agar yüzeyine damlatılmıştır. Petri kutuları daha sonra 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. BHI broth besiyerinde 37°C'de 24 saat aktifleştirilmiş test mikroorganizmalarından (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *E.coli* ATCC 35218, *Enterococcus faecium* M74, *Enterococcus faecalis* NCIMB 700584, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644) % 0,75 agar içeren 10 mL BHI agar besiyerine 10 µL miktarda eklenip karıştırılmış ve bu karışım BHI agarda geliştirilen damlatma kültürlerin üzerine dökülmüştür. Petri kutuları daha sonra 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Suşların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyel aktiviteleri, inkübasyon sonunda damlatma kültürler etrafında oluşan şeffaf inhibisyon zonları yönüyle değerlendirilmiştir.

3.2.1.1. Düşük pH'ın izolatların antimikrobiyel aktivitesinden sorumlu olup olmadığının belirlenmesi

Enterokok izolatlarının test bakterileri üzerindeki antimikrobiyel aktivitelerinin yüksek asitlikten kaynaklanıp kaynaklanmadığı kültür süpernatantlarının pH değerleri nötralleştirilerek, agar difüzyon tekniği ile belirlenmiştir.

MRS broth besiyerinde 37°C'de 24 saat süre ile aktifleştirilen enterokok izolat kültürleri 3000 rpm'de 10 dakika süre ile 4°C'de santrifüjlenerek süpernatantlar elde edilmiştir. Süpernatant pH'ları, 6 N NaOH veya 6 N HCl kullanılarak pH 6,0-7,0 olarak ayarlanmıştır. Nötral pH'lardaki süpernatantlar 0,22 µm gözenek çaplı steril membran filtreden (Millipore, USA) geçirilerek sterilize edilmiş ve bunların antimikrobiyel etkileri agar difüzyon tekniği ile test edilmiştir. Aktifleştirilmiş 0,1 mL test bakterisi % 0,75 agar (w/v) içeren 20 mL miktardaki BHIA besiyeri içine ilave edilip karıştırılarak steril petri kutularına dökülmüş ve buzdolabı içerisinde 2 saat bekletilerek katılaşması sağlanmıştır. Katılaştıran agar yüzeyine 1 mL'lik steril otomatik pipet uçları kullanılarak 8 mm çapında kuyucuklar açılmış ve her bir kuyucuk içine çalışılan izolatların hücre içermeyen süpernatantlarından 100 µL miktarda ayrı ayrı eklenmiştir. Enterokok izolatlarının antimikrobiyel aktiviteleri, petri kutularının 37°C'de 24 saat inkübasyonunun ardından kuyucuklar etrafında oluşan şeffaf inhibisyon zonları cetvel ile ölçülerek belirlenmiştir (Harris ve ark. 1989).

3.2.1.2. Hidrojen peroksit varlığının izolatların antimikrobiyel aktivitesinden sorumlu olup olmadığının belirlenmesi

Enterokok izolatlarının test bakterileri üzerindeki antimikrobiyel aktivitelerinin hidrojen peroksit varlığından kaynaklanıp kaynaklanmadığı katalaz enzimi (Sigma, USA) kullanılarak agar difüzyon tekniğiyle belirlenmiştir.

MRS broth besiyerinde 37°C'de 24 saat süre ile aktifleştirilen izolat kültürleri 3000 rpm'de 10 dakika süre ile 4°C'de santrifüjlenerek süpernatantlar elde edilmiştir. Süpernatantlar nötralize edildikten sonra 0,22 µm gözenek çaplı steril membran filtreden

(Millipore, USA) geçirilerek sterilize edilmiştir. Süpernatantlara olası hidrojen peroksit etkisinin elimine edilmesi amacıyla 1 mg/mL derişiminde katalaz enzim çözeltisi uygulanmış ve 37°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda 80°C'de 5 dakika ısıt işlem uygulanarak enzim aktivitesi inhibe edilmiştir. Bu süpernatantların antimikrobiyel etkileri agar difüzyon yöntemiyle test edilmiştir (Du Toit ve ark. 2000, Tükel ve ark. 2007). Çalışmanın bu kısmı 215O374 No'lu TÜBİTAK 3001 projesi kapsamında Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.3. Protein yapıdaki maddelerin izolatların antimikrobiyel aktivitesinden sorumlu olup olmadığının belirlenmesi

İzolatların antimikrobiyel etkisinin protein yapıda bir madde kaynaklı olup olmadığı proteolitik enzimler kullanılarak agar difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.

MRS (De Man Rogosa Sharpe) broth besiyerinde 37°C'de 24 saat süre ile aktifleştirilen izolat kültür sıvıları 3000 rpm'de 10 dakika süre ile 4°C'de santrifüjlenerek (Sigma, USA) süpernatantlar elde edilmiştir. Süpernatantlar nötralize edildikten sonra 0,22 µm gözenek çaplı steril membran filtreden (Millipore, USA) geçirilerek sterilize edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar ikiye ayrılmış ve her bir süpernatanta 1 mg/mL konsantrasyonda proteinaz K ve tripsin enzimi ayrı ayrı uygulanmış ve 37°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda 80°C'de 5 dakika ısıt işlem uygulanarak enzim aktivitesi inhibe edilmiştir. Bu süpernatantların antimikrobiyel etkileri agar difüzyon yöntemiyle test edilmiştir (Akçelik ve ark. 2006). Çalışmanın bu kısmı 215O374 No'lu TÜBİTAK 3001 projesi kapsamında Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. İzolatların Antimikrobiyel Aktivite Potansiyelleri

Çalışma kapsamında test edilen izolatların elde edildiği kaynaklar ve ait olduğu türler Çizelge 4.1’de belirtilmiştir. Bu çizelgeye göre enterokok izolatlarının ağırlıklı olarak çiğ su ürünlerinden elde edildiği, bunların da sırasıyla sardalye (n=9 izolat), istavrit (n=9 izolat), barbun (n=9 izolat), hamsi (n=8 izolat), izmarit (n=2 izolat) ve sarıkanat (n=1 izolat) dağılımı gösterdiği, işlenmiş ürünlerde ise ançuez ve lakerda kaynaklı birer izolatın analiz edildiği görülmektedir. Çalışılan izolatlar genelde *E. faecalis* (n=27 izolat) türüne aittir ve çiğ su ürünlerinden elde edilmiştir. Diğer enterokok türleri ise yine çiğ balık kaynaklı *E. faecium* (n=6 izolat), çiğ ve işlenmiş su ürünü kaynaklı *E. gallinarum* (n=5) ve *E. casseliflavus* (n=2 izolat) olarak sıralanmaktadır.

Çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilen enterokok izolatlarının bazı Gram pozitif ve Gram negatif test bakterilerine (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *E.coli* ATCC 35218, *Enterococcus faecium* M74, *Enterococcus faecalis* NCIMB 700584, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644) (n=6) ve farklı su ürünü kaynaklı enterokok izolatlarından seçilen suşlara (n=15) karşı gösterdikleri antimikrobiyel aktivite potansiyeline ilişkin agar damlatma testi sonuçları Çizelge 4.2-4.4’te gösterilmiştir. Çalışılan 40 adet izolatın en az bir test bakterisine karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. İzolatların arasında, antimikrobiyel aktivite gösterdiği test bakteri sayısı açısından en geniş etki spektrumuna sahip olan suşun barbun kaynaklı *E. faecalis* (7-1) olduğu ve bu izolatın *L. monocytogenes* ve *S. aureus* da dahil olmak üzere 11 adet test bakterisine karşı 1,2-2,0 cm çaplı aktivite zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Söz konusu izolatın kendisine karşı da 1,6 cm çapında antagonistik etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu izolatı 8 test bakterisi ile barbun kaynaklı *E. faecalis* (7-2) ve sardalye kaynaklı *E. casseliflavus* (68-2) suşu takip etmiştir.

Çalışma kapsamında zon çapının büyüklüğü yönüyle en etkin izolatların sardalye kaynaklı *E. gallinarum* (68-1), sarıkanat kaynaklı *E. gallinarum* (58-2) ve sardalye kaynaklı *E. casseliflavus* (68-2) suşları olduğu ve test bakterilerine karşı oluşturdukları zon çaplarının sırasıyla 1,6-3,6, 1,4-3,8 ve 1,0-3,2 cm aralıklarında olduğu, ayrıca bu

izolatların *Listeria monocytogenes* test bakterisine karşı 3,2-3,8 cm aralığında antagonistik etki oluşturabildiği belirlenmiştir.

Sardalyeden izole edilen *E. faecalis* (5-2), barbundan izole edilen *E. faecalis* (7-1), hamsiden izole edilen *E. faecium* (8-4) ve sarıkanattan izole edilen *E. gallinarum* (58-2) suşlarının kendilerine karşı da antimikrobiyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada test edilen 1-4, 2-3, 2-4, 3-3, 4-1, 7-3, 7-4, 8-2, 8-3 numaralı *E. faecalis* ve 77-3 numaralı *E. casseliflavus* izolatlarının sadece referans bakteri suşlarına karşı aktivite gösterdiği, su ürünü kaynaklı izolatlar arasından seçilen enterokok suşlarına karşı aktivite göstermediği görülmüştür.

Gram negatif özellikteki *E. coli* ATCC 35218 suşuna karşı yapılan çalışmada denenen izolatlar arasından sadece hamsiden izole edilen *E. faecalis* (8-1) ve ançuezen izole edilen *E. casseliflavus* (77-3) suşlarının sırasıyla 1,5 cm ve 1,0 cm zon çaplarında antimikrobiyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Gram negatif bakterilerin hücre duvar yapısındaki farklılık antimikrobiyel maddelere karşı bu grup bakterileri dirençli hale getirmektedir. Bu bakterilerin ısıtma işlemi, trisodyum fosfat veya EDTA gibi şelat ajanlarına maruz bırakılmaları bu direncin ortadan kalkmasına yardımcı olmaktadır (Cotter ve ark. 2005, Kurt ve Zorba 2005, Asutay 2007, Uludağ 2015).

İzolatların en fazla *S. aureus* ATCC 6538 suşuna karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği görülmüştür. Test edilen 40 adet su ürünü kaynaklı enterokok izolatının 23 adetinde 1,0-1,3 cm çap aralığında antimikrobiyel aktivite belirlenmiştir. Aktivite gösteren izolatların ağırlıklı olarak sardalye, istavrit ve barbun kaynaklı olduğu belirlenmiştir.

İzolatların hiçbiri sardalye kaynaklı *E. faecalis* (1-2), istavrit kaynaklı *E. faecalis* (2-1) ve barbun kaynaklı *E. faecium* (3-4) test bakterilerine karşı aktivite göstermemiştir. İzolatların, kendi aralarından seçilen test bakterilerine karşı gösterdikleri aktivite değerlendirildiğinde en yüksek aktiviteyi sardalyeden izole edilen *E. gallinarum* (68-1)'un istavritten izole edilen *E. faecalis* (6-6) ve sardalyeden izole edilen *E. casseliflavus* (68-2)'a karşı gösterdiği ve zon çaplarının sırasıyla 3,6 cm ve 3,1 cm olduğu tespit edilmiştir. İzolatların, referans bakteri suşlarına karşı gösterdiği antimikrobiyel aktivite

değerlendirildiğinde en yüksek aktiviteyi sarıkanattan izole edilen *E. gallinarum* (58-2)'un 3,8 cm zon çapı ile *L. monocytogenes* ATCC 7644'e karşı, en düşük aktiviteyi ise sardalyeden izole edilen *E. faecalis* (5-3)'in 0,9 cm zon çapı ile *E. faecalis* NCIMB 700584'e karşı gösterdiği belirlenmiştir.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde izolatların ağırlıklı olarak *S. aureus* ATCC 6538, *E. faecium* M74, *E. faecalis* NCIMB 700584, *L. innocua* ATCC 33090 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 test bakterilerine karşı ve 0,9-3,8 cm aralığında zon çapına sahip antimikrobiyel aktivite potansiyeli gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4). İzolatların 29 adedi *S. aureus* ATCC 6538'e, 2 adedi *E. coli* ATCC 35218'e, 13 adedi *E. faecium* M74'e, 13 adedi *E. faecalis* NCIMB 700584'e, 14 adedi *L. innocua* ATCC 33090'a ve 14 adedi *L. monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Gram negatif bakterilerden *E. coli* ATCC 35218 suşu enterokok izolatları tarafından üretilen antimikrobiyel maddelere karşı oldukça dirençli bulunmuştur. İzolatlar arasında kendilerine karşı antimikrobiyel aktivite gösteren suşlar bulunmasına rağmen bazı suşların enterokok türlerine karşı oldukça dirençli olduğu saptanmıştır. *S. aureus*, *L. innocua* ve *L. monocytogenes*'in test edilen referans suşlarının çalışmada denenen su ürünü kaynaklı enterokok izolatlarına karşı en duyarlı patojen bakteriler olduğu tespit edilmiştir.

Tez çalışmasında elde edilen sonuçlara benzer şekilde, ulusal ve uluslararası literatürde de su ürünü ve diğer gıda kaynaklı enterokok izolatlarının antimikrobiyel aktivite potansiyellerinin değerlendirildiği çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.

Valenzuela ve ark. (2010) çiğ su ürünlerinden (yumuşakçalar, balık, balık filetoları) izole ettikleri *E. faecium* izolatlarının antimikrobiyel dirençliliklerini ve bakteriyosin üretim potansiyellerini agar damlatma yöntemiyle test etmişlerdir. Çalışma sonucunda *E. faecium* izolatlarının *Enterococcus* spp., *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı inhibitör etkili olduğu tespit edilmiştir. İzolatlarda *B. cereus* ve *E. coli*'ye karşı antibakteriyel aktivite görülmediği belirtilmiştir.

Chahad ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada çipura ve levrekten izole edilen *Enterococcus* cinsine ait izolatların antimikrobiyel aktiviteleri agar damlatma yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda enterokok izolatlarının *Carnobacterium* spp., *Bacillus* spp., *L. monocytogenes*, *A. salmonicida*, *A. hydrophila* ve *V. anguillarum*'a karşı inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Yildirim ve ark. (2014) beyaz peynirden izole ettikleri *E. faecium* HZ tarafından sentezlenen enterosin HZ'nin antimikrobiyel aktivitesini agar damlatma yöntemi kullanarak test etmişlerdir. Çalışma sonucunda enterosin HZ'nin *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Enterococcus* spp., *B. cereus*, *L. mesenteroides*, *L. ivanovii* ve *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Enterokok izolatlarının elde edildiği kaynaklar ve ait olduğu türler

Sıra No	İzolat No	Kaynak	Tür
1	1-2	Sardalye	<i>E. faecalis</i>
2	1-3	Sardalye	<i>E. faecalis</i>
3	1-4	Sardalye	<i>E. faecalis</i>
4	1-5	Sardalye	<i>E. faecalis</i>
5	2-1	İstavrit	<i>E. faecalis</i>
6	2-2	İstavrit	<i>E. faecalis</i>
7	2-3	İstavrit	<i>E. faecalis</i>
8	2-4	İstavrit	<i>E. faecalis</i>
9	2-5	İstavrit	<i>E. faecalis</i>
10	3-1	Barbun	<i>E. faecalis</i>
11	3-2	Barbun	<i>E. faecalis</i>
12	3-3	Barbun	<i>E. faecalis</i>
13	3-4	Barbun	<i>E. faecium</i>
14	3-5	Barbun	<i>E. faecalis</i>
15	4-1	Hamsi	<i>E. faecalis</i>
16	4-2	Hamsi	<i>E. faecalis</i>
17	5-2	Sardalye	<i>E. faecalis</i>
18	5-3	Sardalye	<i>E. faecalis</i>
19	5-4	Sardalye	<i>E. faecium</i>
20	6-1	İstavrit	<i>E. faecium</i>
21	6-4	İstavrit	<i>E. faecium</i>
22	6-5	İstavrit	<i>E. faecium</i>
23	6-6	İstavrit	<i>E. faecalis</i>
24	7-1	Barbun	<i>E. faecalis</i>
25	7-2	Barbun	<i>E. faecalis</i>
26	7-3	Barbun	<i>E. faecalis</i>
27	7-4	Barbun	<i>E. faecalis</i>
28	8-1	Hamsi	<i>E. faecalis</i>
29	8-2	Hamsi	<i>E. faecalis</i>
30	8-3	Hamsi	<i>E. faecalis</i>
31	8-4	Hamsi	<i>E. faecium</i>
32	8-5	Hamsi	<i>E. faecalis</i>
33	8-6	Hamsi	<i>E. faecalis</i>
34	58-2	Sarıkanat	<i>E. gallinarum</i>
35	68-1	Sardalye	<i>E. gallinarum</i>
36	68-2	Sardalye	<i>E. casseliflavus</i>
37	77-3	Ançuez	<i>E. casseliflavus</i>
38	80-1	Lakerda	<i>E. gallinarum</i>
39	88-2	İzmarit	<i>E. gallinarum</i>
40	88-3	İzmarit	<i>E. gallinarum</i>

Çizelge 4.2. Enterokok izolatlarının bazı test bakterilerine karşı antimikrobiyel aktivite zon çapları (cm)

Sıra No	İzolat No	1-2	2-1	3-1	3-4	4-1	5-2	5-4	6-1
1	1-2	-*	-	-	-	-	-	-	1,5
2	1-3	-	-	-	-	-	-	-	1,7
3	1-4	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1-5	-	-	-	-	-	-	-	-
5	2-1	-	-	-	-	-	-	-	1,7
6	2-2	-	-	-	-	-	-	-	-
7	2-3	-	-	-	-	-	-	-	-
8	2-4	-	-	-	-	-	-	-	-
9	2-5	-	-	-	-	-	-	-	-
10	3-1	-	-	-	-	-	-	-	-
11	3-2	-	-	-	-	-	-	-	-
12	3-3	-	-	-	-	-	-	-	-
13	3-4	-	-	-	-	-	-	-	-
14	3-5	-	-	-	-	-	-	-	-
15	4-1	-	-	-	-	-	-	-	-
16	4-2	-	-	-	-	-	-	1,9	-
17	5-2	-	-	-	-	-	1,0	1,5	-
18	5-3	-	-	-	-	-	-	1,5	-
19	5-4	-	-	-	-	-	-	-	-
20	6-1	-	-	-	-	-	-	1,8	-
21	6-4	-	-	-	-	-	-	-	-
22	6-5	-	-	-	-	-	-	1,7	1,4
23	6-6	-	-	-	-	-	-	1,2	-
24	7-1	-	-	-	-	-	-	-	1,3
25	7-2	-	-	-	-	-	-	-	-
26	7-3	-	-	-	-	-	-	-	-
27	7-4	-	-	-	-	-	-	-	-
28	8-1	-	-	-	-	-	-	-	-
29	8-2	-	-	-	-	-	-	-	-
30	8-3	-	-	-	-	-	-	-	-
31	8-4	-	-	-	-	-	-	-	-
32	8-5	-	-	-	-	-	-	-	1,5
33	8-6	-	-	-	-	-	-	-	1,7
34	58-2	-	-	-	-	-	-	-	1,8
35	68-1	-	-	-	-	-	-	-	-
36	68-2	-	-	-	-	-	-	-	-
37	77-3	-	-	-	-	-	-	-	-
38	80-1	-	-	2,0	-	-	-	-	-
39	88-2	-	-	-	-	1,6	-	-	-
40	88-3	-	-	-	-	-	-	-	-

*: antimikrobiyel aktivite yok

Çizelge 4.3. Enterokok izolatlarının bazı test bakterilerine karşı antimikrobiyel aktivite zon çapları (cm)(devamı)

Sıra No	İzolat No	6-6	7-1	8-1	8-4	58-2	68-2	88-2
1	1-2	1,5	-*	-	-	-	-	1,5
2	1-3	-	-	-	-	-	-	-
3	1-4	-	-	-	-	-	-	-
4	1-5	-	-	1,8	-	-	-	-
5	2-1	-	-	-	-	-	-	-
6	2-2	-	-	-	1,8	1,5	-	-
7	2-3	-	-	-	-	-	-	-
8	2-4	-	-	-	-	-	-	-
9	2-5	-	1,9	-	-	-	-	-
10	3-1	1,5	1,8	1,1	-	1,4	-	-
11	3-2	1,4	-	-	-	-	-	-
12	3-3	-	-	-	-	-	-	-
13	3-4	-	-	-	-	-	-	1,7
14	3-5	-	-	-	-	-	-	1,8
15	4-1	-	-	-	-	-	-	-
16	4-2	1,7	-	-	-	-	-	-
17	5-2	1,8	-	-	-	-	-	-
18	5-3	1,5	1,0	1,5	-	-	-	-
19	5-4	-	1,4	1,8	-	1,2	-	-
20	6-1	1,7	-	-	-	-	-	-
21	6-4	-	1,5	-	-	-	-	1,7
22	6-5	-	1,3	-	-	1,7	-	1,5
23	6-6	-	1,8	-	1,4	1,5	-	1,6
24	7-1	1,6	1,6	-	2,0	1,4	-	1,7
25	7-2	1,6	1,4	-	-	1,4	-	-
26	7-3	-	-	-	-	-	-	-
27	7-4	-	-	-	-	-	-	-
28	8-1	-	-	-	-	1,4	-	-
29	8-2	-	-	-	-	-	-	-
30	8-3	-	-	-	-	-	-	-
31	8-4	-	-	-	1,1	-	-	-
32	8-5	-	-	-	1,7	-	-	-
33	8-6	-	-	-	-	1,1	-	-
34	58-2	-	-	-	-	1,8	-	-
35	68-1	3,6	-	-	-	-	3,1	-
36	68-2	1,5	-	2,0	2,0	1,9	-	-
37	77-3	-	-	-	-	-	-	-
38	80-1	-	-	-	-	1,6	-	-
39	88-2	-	-	0,9	1,6	-	-	-
40	88-3	-	-	-	1,8	-	-	-

*: antimikrobiyel aktivite yok

Çizelge 4.4. Enterokok izolatlarının bazı test bakterilerine karşı antimikrobiyel aktivite zon çapları (cm)(devamı)

Sıra No	İzolat No	<i>S.aureus</i> ATCC 6538	<i>E.coli</i> ATCC 35218	<i>E.faecium</i> M74	<i>E.faecalis</i> NCIMB 700584	<i>L.innocua</i> ATCC 33090	<i>L.monocytogenes</i> ATCC 7644
1	1-2	1,2	-*	-	-	-	-
2	1-3	1,0	-	-	-	-	-
3	1-4	1,1	-	-	-	-	-
4	1-5	-	-	-	-	-	-
5	2-1	-	-	-	-	-	-
6	2-2	1,3	-	-	-	-	-
7	2-3	1,3	-	-	-	1,2	-
8	2-4	1,0	-	-	-	1,5	1,3
9	2-5	1,0	-	-	-	-	-
10	3-1	1,1	-	-	-	-	-
11	3-2	-	-	-	-	-	-
12	3-3	1,0	-	-	-	-	1,0
13	3-4	1,0	-	-	-	-	-
14	3-5	1,2	-	-	-	-	1,3
15	4-1	1,0	-	-	-	-	-
16	4-2	-	-	-	-	-	-
17	5-2	1,3	-	1,2	1,0	-	-
18	5-3	1,2	-	-	0,9	-	-
19	5-4	1,0	-	1,3	-	-	1,1
20	6-1	1,0	-	-	-	-	-
21	6-4	-	-	-	-	-	-
22	6-5	1,3	-	-	-	-	-
23	6-6	1,2	-	-	-	1,2	-
24	7-1	1,2	-	1,6	1,6	1,6	1,6
25	7-2	1,1	-	1,5	1,1	1,3	2,6
26	7-3	1,3	-	-	-	-	1,3
27	7-4	1,3	-	1,1	-	-	-
28	8-1	1,1	1,5	-	-	-	-
29	8-2	1,3	-	1,3	-	-	-
30	8-3	1,2	-	-	-	-	-
31	8-4	1,2	-	-	1,3	1,1	-
32	8-5	-	-	-	1,2	1,2	-
33	8-6	-	-	-	1,3	-	-
34	58-2	-	-	1,4	2,9	2,0	3,8
35	68-1	-	-	2,9	2,4	1,6	3,4
36	68-2	-	-	1,0	1,2	1,2	3,2
37	77-3	1,0	1,0	1,1	-	2,8	1,2
38	80-1	1,2	-	1,0	2,3	1,5	1,2
39	88-2	-	-	1,0	2,1	1,8	1,4
40	88-3	1,3	-	2,4	1,4	3,2	1,3

*: antimikrobiyel aktivite yok

Laktik asit bakterilerinin doğal metabolizma faaliyetleri doğrultusunda gelişme ortamında bakteriyosinlerin haricinde bir takım antimikrobiyel madde (organik asitler ve hidrojen peroksit gibi) ürettiği bilinmektedir. Bu nedenle, izolatların antimikrobiyel etkisinin protein yapısındaki bakteriyosinden mi yoksa gelişme ortamında oluşturdukları diğer metabolitlerden mi kaynaklandığının belirlenmesi amacıyla antimikrobiyel etkiye neden olan metabolitin protein yapısında olup olmadığının test edilmesi gerekmektedir (İşleroğlu 2006, Uludağ 2015).

Aslim ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada süt ürünlerinden izole ettikleri laktobasil suşlarının (*Lb. bulgaricus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. fermentum*, *Lb. brevis*, *Lb. lactis*, *Lb. helveticus*) agar difüzyon yöntemi kullanılarak patojen test bakterilerine (*S. aureus*, *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*) karşı nötralizasyon ve katalaz ilavesi öncesi inhibisyon etkisi tespit edilmiş, süpernatant pH'larının 6,5'e ayarlanması ve ortama katalaz ilave edilmesi sonrasında ise patojen test bakterilerine karşı oluşan inhibisyon etkisinde önemli azalma meydana geldiği ve sadece 3 laktobasil suşunun (*Lb. plantarum* 10, *Lb. fermentum* 25, *Lb. acidophilus* 1) inhibisyon etkisinin devam ettiği tespit edilmiştir.

Çalışmada, antimikrobiyel aktivite potansiyeli agar damlatma yöntemiyle test edilen ve bir veya birden fazla referans test bakterisine karşı 1,5 cm ve üzeri zon çapı oluşturan *E. faecalis* 2-4, *E. faecalis* 7-1, *E. faecalis* 7-2, *E. faecalis* 8-1, *E. faecalis* 8-5, *E. gallinarum* 58-2, *E. gallinarum* 68-1, *E. casseliflavus* 68-2, *E. casseliflavus* 77-3, *E. gallinarum* 80-1, *E. gallinarum* 88-2 ve *E. gallinarum* 88-3 izolatlarının hücre içermeyen süpernatantları ile ileri analizlere agar difüzyon yöntemi uygulanarak devam edilmiştir.

İzolatların antimikrobiyel etkisinin yüksek asitlikten kaynaklanıp kaynaklanmadığının belirlenmesi amacıyla izolatların hücre içermeyen süpernatantlarının pH değerleri nötralleştirilerek, süpernatantların olası antimikrobiyel aktivitesi agar difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Bu işlem sonucunda test bakterilerine karşı inhibisyon zonu oluşturan izolatlar *E. gallinarum* 58-2, *E. gallinarum* 68-1, *E. casseliflavus* 68-2, *E. casseliflavus* 77-3, *E. gallinarum* 80-1, *E. gallinarum* 88-2 ve *E. gallinarum* 88-3 olarak belirlenmiş ve çalışmaya bu izolatlarla devam edilmiştir.

Olası bakteriyosin üreticisi olarak belirlenen bu suşların antimikrobiyel etkisinin hidrojen peroksit kaynaklı olup olmadığı ve antimikrobiyel etkiye neden olan metabolitin protein yapısında olup olmadığının belirlenmesi amacıyla antimikrobiyel aktiviteye sahip hücre içermeyen süpernatantlar üzerinde ayrı ayrı olmak üzere katalaz, proteinaz K ve tripsin uygulaması yapılmıştır. Bu testin gerçekleştirilmesi sırasında gıda kaynaklı önemli bir patojen olan *L. monocytogenes* ATCC 7644 referans suşu test bakterisi olarak seçilmiş ve izolatların bu patojene karşı olan antimikrobiyel etkinliği izolatların olası bakteriyosin üreticisi olup olmadığı kapsamında değerlendirilmiştir. Proteinaz K ve tripsin enzimlerinin, antimikrobiyel aktivitesi test edilen suşların süpernatantları üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Katalaz enziminin ise suşların süpernatantları üzerine herhangi bir etkisi bulunmamıştır (Çizelge 4.5). Elde edilen analiz sonuçlarına göre, çalışma kapsamında enterokok suşlarının antimikrobiyel aktivite gösteren metabolitlerinin protein yapısında bakteriyosinler olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi test edilen tüm suşlardaki antimikrobiyel aktivite, proteinaz K ve tripsin enzimleri uygulaması sonucunda kaybolmuştur. Bu sonuçlar, elde edilen süpernatantlardaki antimikrobiyel etkinin hidrojen peroksit kaynaklı olmadığı ve bu süpernatantlarda aktivite gösteren metabolitin protein yapısında olduğuna işaret etmektedir.

Çizelge 4.5. Test suşlarının *Listeria monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antimikrobiyel aktivitesi üzerine katalaz, proteinaz K ve tripsinin etkisi

Kullanılan Enzim		Suşların Bakteriyosin Aktiviteleri (AU/mL) ve Zon Çapları (cm)						
		58-2	68-1	68-2	77-3	80-1	88-2	88-3
Kontrol	Aktivite	320	320	80	40	20	40	40
	Zon Çapı	2,0	2,1	1,4	1,2	1,1	1,3	1,2
Katalaz	Aktivite	320	320	80	40	20	40	40
	Zon Çapı	2,0	2,0	1,3	1,1	1,1	1,2	1,2
Proteinaz K	Aktivite	- *	-	-	-	-	-	-
	Zon Çapı	-	-	-	-	-	-	-
Tripsin	Aktivite	-	-	-	-	-	-	-
	Zon Çapı	-	-	-	-	-	-	-

*:antimikrobiyel aktivite yok

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinlerin proteolitik enzimler ile muamele sonucu aktivitesini kaybettiği yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir. Literatürde, bu çalışmada elde edilen verileri destekleyen sonuçların elde edildiği araştırmalar bulunmaktadır (Ennahar ve ark. 1998, Gupta ve ark. 2010, Tuncer ve ark. 2014, Gök Charyyev 2016).

Ennahar ve ark. (1998) peynirden izole ettikleri *E. faecium* WHE 81 suşu ile yaptıkları çalışmada bu bakterinin ürettiği enterosin 81'in α -kimotripsin, fisin, pepsin, pronaz E, proteinaz K ve tripsin enzimleri ile aktivitesini kaybettiğini ancak α -amilaz, lipaz ve katalaz enzimlerinden etkilenmediğini tespit etmişlerdir.

Gupta ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada *E. faecium* FH 99 suşunun ürettiği bakteriyosin aktivitesi üzerine enzim etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda bakteriyosin aktivitesinin proteinaz K, pepsin, tripsin, papain, fisin, pronaz E, kimotripsin, proteaz I ve proteaz XIII ile kaybolduğu ancak lipaz, amilaz, katalaz ve rennin enzimlerinden etkilenmediği tespit edilmiştir.

Tuncer ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada çiğ süttten izole edilen enterosin B üreticisi *E. faecalis* MYE58 suşunun güvenlik değerlendirmesi yapılmıştır. Çalışma sonucunda MYE58 izolatı tarafından üretilen bakteriyosinin *S. aureus* ATCC6538P, *L. innocua* LMG2813, *L. monocytogenes* ATCC15813 ve *L. monocytogenes* ATCC19115 suşlarına karşı güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Gök Charyyev (2016) tarafından yapılan çalışmada bozadan izole edilen bakteriyosin üreticisi *E. faecium* YT52 suşunun *L. monocytogenes* ve *B. cereus* gibi çeşitli Gram pozitif bakterileri inhibe ettiği belirlenmiştir.

Ayrıca tez çalışmasının da içinde yer aldığı 2150374 No'lu TÜBİTAK 3001 projesi kapsamında, antimikrobiyel aktivite potansiyeline sahip izolatlardan 5 adedinde (*E. gallinarum* 68-1, *E. casseliflavus* 68-2, *E. casseliflavus* 77-3, *E. gallinarum* 80-1 ve *E. gallinarum* 88-2) enterosin kodlayan *entA* ve/veya *entB* genlerinin de varlığı belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Enterosin kodlayan genlerin en az birini barındıran bu

izolatların test bakterilerine karşı yaygın bir etki spektrumuna sahip oldukları ve *L. monocytogenes*'e karşı da 1,2-3,4 cm zon çapında antagonistik etki gösterebildiği görülmüştür.

Valenzuela ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada en yaygın enterosinleri kodlayan yapısal genlerin (*entA*, *entB*, *entP*, *entQ*, *ent1071*, *entL50A/entL50B*, *ent31*) PCR amplifikasyonu sonucu *E. faecium* PE 2-2 suşunun *entA* yapısal genini taşıdığı tespit edilmiştir.

Chahad ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada balıktan izole edilen enterokok izolatlarının *entA*, *entB*, *entP*, *entL50*, *entP2*, *entP1P2*, *entP1P3* enterosin yapısal genlerini taşıdığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. İzolatlarda *entA* ve/veya *entB* genlerinin bulunma durumu

Sıra No	İzolat No	Kaynak	Tür	<i>entA</i> geni	<i>entB</i> geni
1	68-1	Sardalye	<i>E. gallinarum</i>	+	-
2	68-2	Sardalye	<i>E. casseliflavus</i>	-	+
3	77-3	Ançuez	<i>E. casseliflavus</i>	+	-
4	80-1	Lakerda	<i>E. gallinarum</i>	+	+
5	88-2	İzmarit	<i>E. gallinarum</i>	-	+

Enterokokların da içinde bulunduğu laktik asit bakterileri, *Listeria* spp. gibi gıdalarda bozulma ve hastalık etmeni Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyel aktiviteye sahip bakteriyosinler üretmektedir (Alvarez Cisneros ve ark. 2010). *E. faecalis* ve *E. faecium* başta olmak üzere bazı enterokok suşlarının ürettiği bakteriyosinler (enterosin) *B. cereus*, *Clostridium* spp., *Listeria* spp. ve *S. aureus* gibi patojen bakterilere karşı etki gösterebilmektedir (Strompfova ve ark. 2008, Valenzuela ve ark. 2009, Çetinkaya ve Elal Muş 2010).

Çeşitli su ürünlerinden (Akdeniz balıklarının iç organları, çipura, levrek vb.) izole edilen bakteriyosin üreticisi enterokok suşlarının *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *B. cereus*, *Lactobacillus* spp., *Carnobacterium* spp., *A. salmonicida*, *A. hydrophila* ve *V.*

anguillarum'a karşı inhibitör etkili olduğu belirlenmiştir (Chahad ve ark. 2012, Migaw ve ark. 2014). Ülkemizde Katırcıoğlu ve Beyatlı (2003) tarafından yapılan bir çalışmada gökkuşuğı alabalığı ve aynalı sazandan izole edilen *Lactobacillus* suşlarının bakteriyosin benzeri madde ürettiğine ilişkin veriler bulunmakta ancak ülkemiz sularında yetiştirilen, avlanan ve işlenerek ülkemiz piyasasında satışa sunulan su ürünlerinden izole edilen enterokokların bakteriyosin üretme potansiyellerine ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen veriler neticesinde ülkemizde avlanan ve işlenen su ürünlerinden izole edilen enterokok izolatlarında *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *E. faecalis* ve *E. faecium*'a karşı belirgin bir antimikrobiyel aktivite potansiyeli belirlenmiştir.

5. SONUÇ

Bu çalışma kapsamında ekonomik öneme sahip çiğ ve işlenmiş su ürünü örneklerinden elde edilen enterokok izolatları antimikrobiyel aktivite potansiyeli yönünden değerlendirilmiştir. Çalışılan 40 adet izolatta *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *E.coli* ATCC 35218, *Enterococcus faecium* M74, *Enterococcus faecalis* NCIMB 700584, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 referans bakterilerini ve farklı su ürünü kaynaklı enterokok izolatlarından seçilen suşları içeren test bakterilerinden en az birine karşı antimikrobiyel aktivite potansiyeli belirlenmiştir.

Çalışmada potansiyel bakteriyosin üreticisi suşların belirlenmesi amacıyla, agar damlatma testinde bir ya da daha fazla test bakterisine karşı en az 1,5 cm zon çapında antimikrobiyel aktivite belirlenen izolatların (n=12) hücre içermeyen süpernatantları üzerinde ayrı ayrı olmak üzere katalaz, proteinaz K ve tripsin uygulaması yapılmış ve izolatların *L. monocytogenes*'e karşı etkinliği test edilmiştir. Proteinaz K ve tripsin enzimlerinin antimikrobiyel aktivitesi test edilen suşların süpernatantları üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Katalaz enziminin ise suşların süpernatantları üzerine herhangi bir etkisi bulunmamıştır. Elde edilen analiz sonuçlarına göre *E. gallinarum* 68-1, *E. casseliflavus* 68-2, *E. casseliflavus* 77-3, *E. gallinarum* 80-1 ve *E. gallinarum* 88-2 izolatlarında antimikrobiyel aktivite gösteren metabolitlerinin protein yapısında bakteriyosinler olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu izolatlarda ayrıca enterosin kodlayan *entA* ve *entB* genlerinden en az birinin varlığı da ortaya konmuştur.

Bu izolatların gıda endüstrisinde koruyucu kültür olarak kullanılabilme potansiyelinin belirlenebilmesi için suşların ürettiği bakteriyosinlerin saflaştırılması, saflaştırılan bakteriyosinin molekül ağırlığının, amino asit diziliminin ve bakteriyosin üretici gen diziliminin belirlenmesi, söz konusu bakteriyosinlerin ya da bakteriyosin üreten izolatların gıda ortamındaki etkinliğinin, gıda ortamındaki diğer mikroorganizmalarla olan ilişkilerinin değerlendirilmesi, gıda işleme prosesinde etkinliğinin kontrolü ve üretilen bakteriyosinlerin toksisite testlerinin gerçekleştirilmesi gibi ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abanoz, H.S. 2014.** *Enterococcus faecalis* KT11'in Probiyotik Potansiyelinin Belirlenmesi ve Bakteriyosin Üretimi Üzerine Çalışmalar. *Yüksek Lisans Tezi*, EOÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
- Abee, T., Krockel, L., Hill, C. 1995.** Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *International Journal of Food Microbiology*, 28: 169-185.
- Abriouel, H., Valdivia, E., Galvez, A., Maqueda, M. 1998.** Response of *Salmonella choleraesuis* LT2 Spheroplasts and Permeabilized Cells to the Bacteriocin AS-48. *Applied And Environmental Microbiology*, 64(11): 4623-4626.
- Adilla, S.N., Utami, R., Nursiwi, A., Nurhartadi, E. 2017.** The effect of nisin from *Lactococcus lactis subsp. lactis* on refrigerated patin fillet quality. *International Conference on Food Science and Engineering*, 193: 1-7.
- Ahmad, S., Iqbal, A., Rasool, S.A. 2004.** Isolation And Biochemical Characterization of Enterocin ESF100 Produced By *Enterococcus faecalis* ESF100 Isolated from a Patient Suffering from Urinary Tract Infection. *Pak. J. Bot.*, 36(1): 145-158.
- Akçelik, O., Tükel, Ç., Özcengiz, G., Akçelik, M. 2006.** Characterization of bacteriocins from two *Lactococcus lactis subsp. lactis* isolates. *Mol. Nutr. Food Res.*, 50: 306-313.
- Akkoç, N., Şanlıbaba, P., Akçelik, M. 2009.** Bakteriyosinler: Alternatif Gıda Koruyucuları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 25(1-2): 59-70.
- Alvarez Cisneros, Y.M., Fernandez, F.J., Wachter Rodarte, C., Aguilar, M.B., Espunes, T.D.R.S., Ponce Alquicira, E. 2010.** Biochemical characterization of a bacteriocin-like inhibitory substance produced by *Enterococcus faecium* MXVK29, isolated from Mexican traditional sausage. *J Sci Food Agric*, 90: 2475–2481.
- Alvarez Cisneros, Y.M., Espunes, T.D.R.S., Wachter, C., Fernandez, F.J., Ponce Alquicira, E. 2011.** Enterocins: Bacteriocins with applications in the food industry.
- Anonim, 1971.** Su Ürünleri Kanunu. <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.1380.pdf> (Erişim Tarihi: 21.01.2020).
- Aras Hisar, Ş., Hisar, O., Yanık, T. 2004.** Balıklarda Mikrobiyolojik, Enzimatik ve Kimyasal Bozulmalar. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 35(3-4): 261-265.
- Asutay, D. 2007.** Yöresel Bir Gıdadan İzole Edilen Bakteriyosin Üreten Bakterinin Teşhisi Ve Bakteriyosinin Karakterizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, GÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tokat.
- Avcı, M. 2015.** Farklı Peynir Çeşitlerinden Bakteriyosin (Enterocin) Üreticisi Enterokok Suşlarının İzolasyonu Ve Üretilen Bakteriyosinlerin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Tanısı. *Yüksek Lisans Tezi*, SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- Aymerich, T., Holo, H., Havarstein, L.S., Hugas, M., Garriga, M., Nes, I.F. 1996.** Biochemical and Genetic Characterization of Enterocin A from *Enterococcus faecium*, a New Antilisterial Bacteriocin in the Pediocin Family of Bacteriocins. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(5): 1676-1682.
- Balla, E., Dicks, L.M.T., Du Toit, M., Van Der Merwe, M.J., Holzapfel, W.H. 2000.** Characterization and Cloning of the Genes Encoding Enterocin 1071A and Enterocin 1071B, Two Antimicrobial Peptides Produced by *Enterococcus faecalis* BFE 1071. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4): 1298-1304.

- Basanta, A., Sanchez, J., Gomez Sala, B., Herranz, C., Hernandez, P.E., Cintas, L.M. 2008.** Antimicrobial activity of *Enterococcus faecium* L50, a strain producing enterocins L50 (L50A and L50B), P and Q, against beer-spoilage lactic acid bacteria in broth, wort (hopped and unhopped), and alcoholic and non-alcoholic lager beers. *International Journal of Food Microbiology*, 125: 293-307.
- Başbülbul, G. 2009.** Çeşitli Doğal Kaynaklardan İzole Edilen Termofilik Bakterilerin Ürettikleri Bakteriyosinlerin Karakterizasyonu ve Saflaştırılması. *Doktora Tezi*, AMÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- Bauer, R., Dicks, L.M.T. 2005.** Mode of action of lipid II-targeting lantibiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 101: 201-216.
- Behnam, S., Anvari, M., Rezaei, M., Soltanian, S., Safari, R. 2015.** Effect of nisin as a biopreservative agent on quality and shelf life of vacuum packaged rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored at 4 °C. *J Food Sci Technol*, 52(4): 2184-2192.
- Ben Said, L., Hamdaoui, M., Klibi, A., Ben Slama, K., Torres, C., Klibi, N. 2017.** Diversity of species and antibiotic resistance in enterococci isolated from seafood in Tunisia. *Annals of Microbiology*, 67, 135-141.
- Bilgin, H. 2008.** Fermente Süt Ürünüden İzole Edilen Bakteriyosinojenik Bir Bakterinin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Yüksek Lisans Tezi*, GÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tokat.
- Blom, H., Katla, T., Hagen, B.F., Axelsson, L. 1997.** A model assay to demonstrate how intrinsic factors affect diffusion of bacteriocins. *International Journal of Food Microbiology*, 38: 103-109.
- Bruno, M.E.C., Montville, T.J. 1993.** Common Mechanistic Action of Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria. *Applied And Environmental Microbiology*, 59(9): 3003-3010.
- Budde, B.B., Hornbaek, T., Jacobsen, T., Barkholt, V., Koch, A.G. 2003.** *Leuconostoc carnosum* 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats: culture isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments. *International Journal of Food Microbiology*, 83: 171-184.
- Cariolato, D., Andrighetto, C., Lombardi, A. 2008.** Occurrence of virulence factors and antibiotic resistances in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* collected from dairy and human samples in North Italy. *Food Control*, 19: 886-892.
- Casaus, P., Nilsen, T., Cintas, L.M., Nes, I.F., Hernandez, P.E., Holo, H. 1997.** Enterocin B, a new bacteriocin from *Enterococcus faecium* TI36 which can act synergistically with enterocin A. *Microbiology*, 143: 2287-2294.
- Chahad, O.B., Elbour, M., Calo Mata, P., Boudabous, A., Barros Velazquez, J. 2012.** Discovery of novel biopreservation agents with inhibitory effects on growth of food-borne pathogens and their application to seafood products. *Research in Microbiology*, 163: 44-54.
- Chang, S.Y., Chen, Y.S., Pan, S.F., Lee, Y.S., Chang, C.H., Chang, C.H., Yu, B., Wu, H.C. 2013.** Enterocin TW21, a novel bacteriocin from dochi-isolated *Enterococcus faecium* D081821. *Journal of Applied Microbiology*, 115: 673-678.
- Cheigh, C.I., Choi, H.J., Park, H., Kim, S.B., Kook, M.C., Kim, T.S., Hwang, J.K., Pyun, Y.R. 2002.** Influence of growth conditions on the production of a nisin-like bacteriocin by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A164 isolated from kimchi. *Journal of Biotechnology*, 95: 225-235.
- Chen, H., Hoover, D.G. 2003.** Bacteriocins and their Food Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2: 82-100.

- Chen, Y., Yu, C., Ji, S., Liou, M., Leong, K., Pan, S., Wu, H., Lin, Y., Yu, B., Yanagida, F. 2013.** Enterocin T, a novel class IIa bacteriocin produced by *Enterococcus* sp. 812. *Arch Microbiol*, 195: 655-660.
- Cintas, L.M., Casaus, P., Havarstein, L.S., Hernandez, P.E., Nes, I.F. 1997.** Biochemical and Genetic Characterization of Enterocin P, a Novel *sec*-Dependent Bacteriocin from *Enterococcus faecium* P13 with a Broad Antimicrobial Spectrum. *Applied And Environmental Microbiology*, 63(11): 4321-4330.
- Cintas, L.M., Casaus, P., Herranz, C., Havarstein, L.S., Holo, H., Hernandez, P.E., Nes, I.F. 2000.** Biochemical and Genetic Evidence that *Enterococcus faecium* L50 Produces Enterocins L50A and L50B, the *sec*-Dependent Enterocin P, and a Novel Bacteriocin Secreted without an N-Terminal Extension Termed Enterocin Q. *Journal of Bacteriology*, 182(23): 6806-6814.
- Cintas, L.M., Casaus, P., Fernandez, M.F., Hernandez, P.E. 1998.** Comparative antimicrobial activity of enterocin L50, pediocin PA-1, nisin A and lactocin S against spoilage and foodborne pathogenic bacteria. *Food Microbiology*, 15: 289-298.
- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., Chikindas, M.L. 2001.** Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71: 1-20.
- Cotter, P.D., Hill, C., Ross, R.P. 2005.** Bacterial Lantibiotics: Strategies to Improve Therapeutic Potential. *Current Protein and Peptide Science*, 6: 61-75.
- Coventry, M.J., Gordon, J.B., Alexander, M., Hickey, M.W., Wan, J. 1996.** A Food-Grade Process for Isolation and Partial Purification of Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria That Uses Diatomite Calcium Silicate. *Applied And Environmental Microbiology*, 62(5): 1764-1769.
- Criado, R., Diep, D.B., Aakra, A., Gutierrez, J., Nes, I.F., Hernandez, P.E., Cintas, L.M. 2006.** Complete Sequence of the Enterocin Q-Encoding Plasmid pCIZ2 from the Multiple Bacteriocin Producer *Enterococcus faecium* L50 and Genetic Characterization of Enterocin Q Production and Immunity. *Applied And Environmental Microbiology*, 72(10): 6653-6666.
- Çaklı, Ş., Kışla, D. 2003.** Su Ürünlerinde Mikrobiyal Kökenli Bozulmalar ve Önleme Yöntemleri. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 20(1-2): 239-245.
- Çetinkaya, F., Elal Muş, T. 2010.** Yararları ve Riskleriyle Gıda Kaynaklı Enterokoklar. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.* 29(1): 77-83.
- Çıtak, S., Gündoğan, N., Kala, E. 2009.** Ankara İlindeki Dondurulmuş Et ve Sebzelerde Koliform ve Enterokokların Fekal İndikatör Bakteri Olarak Değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66(4): 145-151.
- De Kwaadsteniet, M., Todorov, S.D., Knoetze, H., Dicks, L.M.T. 2005.** Characterization of a 3944 Da bacteriocin, produced by *Enterococcus mundtii* ST15, with activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 433-444.
- De Kwaadsteniet, M., Fraser, T., Van Reenen, C.A., Dicks, L.M.T. 2006.** Bacteriocin T8, a Novel Class IIa *sec*-Dependent Bacteriocin Produced by *Enterococcus faecium* T8, Isolated from Vaginal Secretions of Children Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Applied And Environmental Microbiology*, 72(7): 4761-4766.
- De Martinis, E.C.P., Alves, V.F., Franco, B.D.G.M. 2002.** Fundamentals and Perspectives For The Use of Bacteriocins Produced By Lactic Acid Bacteria in Meat Products. *Food Reviews International*, 18(2-3): 191-208.

- Dean, L.M. 1990.** Nutrition and preparation: The seafood industry, Ed.: Martin, R.E., Flick, G.J., Van Nostrand Reinhold, New York, pp: 255-267.
- Delves Broughton, J., Blackburn, P., Evans, R.J., Hugenholtz, J. 1996.** Applications of the bacteriocin, nisin. *Antonie van Leeuwenhoek*, 69: 193-202.
- Demirci, T. 2013.** Çeşitli Gıdalardan İzole Edilmiş Laktik Asit Bakterilerinin Bakteriyosin Üretme Yeteneklerinin ve Bakteriyosin Kısmi Karakteristiklerinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, SÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Konya.
- Deraz, S.F., Nordberg Karlsson, E., Hedstrom, M., Andersson, M.M., Mattiasson, B. 2005.** Purification and characterisation of acidocin D20079, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079. *Journal of Biotechnology*, 117: 343-354.
- Dezwaan, D.C., Mequio, M.J., Littell, J.S., Allen, J.P., Rossbach, S., Pybus, V. 2007.** Purification and characterization of enterocin 62-6, a two-peptide bacteriocin produced by a vaginal strain of *Enterococcus faecium*: Potential significance in bacterial vaginosis. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 19: 241-250.
- Dinçer, E., Kıvanç, M., Karaca, H. 2010.** Biyokoruyucu Olarak Laktik Asit Bakterileri Ve Bakteriyosinler. *Gıda*, 35: 55-62.
- Drider, D., Fimland, G., Hechard, Y., McMullen, L.M., Prevost, H. 2006.** The Continuing Story of Class IIa Bacteriocins. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, 70(2): 564-582.
- Du Toit, M., Franz, C.M.A.P., Dicks, L.M.T., Holzappel, W.H. 2000.** Preliminary characterization of bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolated from pig faeces. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 482-494.
- Ekici, S., Diler, Ö., Didinen, B.I., Kubilay, A. 2011.** Balıklardan İzole Edilen Bakteriyel Patojenlere Karşı Bazı Bitkisel Uçucu Yağlarının Antibakteriyal Aktivitesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, 17: 47-54.
- Ennahar, S., Aoude Werner, D., Assobhei, O., Hasselmann, C. 1998.** Antilisterial activity of enterocin 81, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* WHE 81 isolated from cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 85: 521-526.
- Ennahar, S., Deschamps, N. 2000.** Anti-*Listeria* effect of enterocin A, produced by cheese isolated *Enterococcus faecium* EFM01, relative to other bacteriocins from lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 449-457.
- Ennahar, S., Sashihara, T., Sonomoto, K., Ishizaki, A. 2000.** Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity. *FEMS Microbiology Reviews*, 24: 85-106.
- Floriano, B., Ruiz Barba, J.L., Jimenez Diaz, R. 1998.** Purification and Genetic Characterization of Enterocin I from *Enterococcus faecium* 6T1a, a Novel Antilisterial Plasmid- Encoded Bacteriocin Which Does Not Belong to the Pediocin Family of Bacteriocins. *Applied And Environmental Microbiology*, 64(12): 4883-4890.
- Foegeding, P.M., Thomas, A.B., Pilkington, D.H., Klaenhammer, T.R. 1992.** Enhanced Control of *Listeria monocytogenes* by In Situ-Produced Pediocin during Dry Fermented Sausage Production. *Applied And Environmental Microbiology*, 58(3): 884-890.
- Foulquie Moreno, M.R., Callewaert, R., Devreese, B., Beeumen, J.V., De Vuyst, L. 2003.** Isolation and biochemical characterisation of enterocins produced by enterococci from different sources. *Journal of Applied Microbiology*, 94: 214-229.
- Foulquie Moreno, M.R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., De Vuyst, L. 2006.** The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106: 1-24.

- Françoise, L. 2010.** Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiology*, 27: 698-709.
- Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H., Stiles, M.E. 1999.** Enterococci at the crossroads of food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 47: 1-24.
- Franz, C.M.A.P., Grube, A., Herrmann, A., Abriouel, H., Starke, J., Lombardi, A., Tauscher, B., Holzapfel, W.H. 2002.** Biochemical and Genetic Characterization of the Two-Peptide Bacteriocin Enterocin 1071 Produced by *Enterococcus faecalis* FAIR-E 309. *Applied And Environmental Microbiology*, 68(5): 2550-2554.
- Franz, C.M.A.P., Stiles, M.E., Schleifer, K.H., Holzapfel, W.H. 2003.** Enterococci in foods a conundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 105-122.
- Galvez, A., Gimenez Gallego, G., Maqueda, M., Valdivia, E. 1989.** Purification and Amino Acid Composition of Peptide Antibiotic AS-48 Produced by *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* subsp. *liquefaciens* S-48. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33(4): 437-441.
- Galvez, A., Abriouel, H., Lopez, R.L., Benomar, N. 2007.** Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120: 51-70.
- Galvez, A., Lopez, R.L., Abriouel, H. 2008.** Application of Bacteriocins in the Control of Foodborne Pathogenic and Spoilage Bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28: 125–152.
- Gao, M., Feng, L., Jiang, T., Zhu, J., Fu, L., Yuan, D., Li, J. 2014.** The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (*Trachinotus ovatus*) fillet during chilled storage. *Food Control*, 37: 1-8.
- Gardini, F., Martuscelli, M., Caruso, M.C., Galgano, F., Crudele, M.A., Favati, F., Guerzoni, M.E., Suzzi, G. 2001.** Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Food Microbiology*, 64: 105-117.
- Garneau, S., Martin, N.I., Vederas, J.C. 2002.** Two-peptide bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *Biochimie*, 84: 577-592.
- Ghrairi, T., Frere, J., Berjeaud, J.M., Manai, M. 2008.** Purification and characterisation of bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* from Tunisian rigouta cheese. *Food Control*, 19: 162-169.
- Gilmore, M.S., Segarra, R.A., Booth, M.C., Bogie, C.P., Hall, L.R., Clewell, D.B. 1994.** Genetic Structure of the *Enterococcus faecalis* Plasmid pADi- Encoded Cytolytic Toxin System and Its Relationship to Lantibiotic Determinants. *Journal of Bacteriology*, 176(23): 7335-7344.
- Giraffa, G. 2002.** Enterococci from foods. *FEMS Microbiology Reviews*, 26: 163-171.
- Gomez Sala, B., Munoz Atienza, E., Sanchez, J., Basanta, A., Herranz, C., Hernandez, P.E., Cintas, L.M. 2015.** Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from fish, seafood and fish products. *Eur Food Res Technol*, 241: 341-356.
- Gök Charyyev, M. 2016.** Bozadan İzole Edilen *Enterococcus faecium* YT52 Suşu Tarafından Üretilen Bakteriyosinin Karakterizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- Grande, M.J., Lucas, R., Abriouel, H., Benomar, N., Maqueda, M., Martinez Bueno, M., Martinez Canamero, M., Valdivia, E., Galvez, A. 2005.** Control of *Alicyclobacillus acidoterrestis* in fruit juices by enterocin AS-48. *International Journal of Food Microbiology*, 104: 289– 297.

- Grande Burgos, M.J., Pulido, R.P., Lopez Aguayo, M.C., Galvez, A., Lucas, R. 2014.** The Cyclic Antibacterial Peptide Enterocin AS-48: Isolation, Mode of Action, and Possible Food Applications. *Int. J. Mol. Sci.*, 15: 22706-22727.
- Gravesen, A., Jydegaard Axelsen, A.M., Mendes da Silva, J., Hansen, T.B., Knochel, S. 2002.** Frequency of Bacteriocin Resistance Development and Associated Fitness Costs in *Listeria monocytogenes*. *Applied And Environmental Microbiology*, 68(2): 756-764.
- Guerra, N.P., Rua, M.L., Pastrana, L. 2001.** Nutritional factors affecting the production of two bacteriocins from lactic acid bacteria on whey. *International Journal of Food Microbiology*, 70: 267-281.
- Gui, M., Zhao, B., Song, J., Zhang, Z., Peng, Z., Li, P. 2014.** Paraplantaricin L-ZB1, a Novel Bacteriocin and Its Application as a Biopreservative Agent on Quality and Shelf Life of Rainbow Trout Fillets Stored at 4 °C. *Appl Biochem Biotechnol*, 174: 2295-2306.
- Gupta, H., Malik, R.K., Bhardwaj, A., Kaur, G., De, S., Kaushik, J.K. 2010.** Purification and characterization of enterocin FH 99 produced by a faecal isolate *Enterococcus faecium* FH 99. *Indian J Microbiol*, 50: 145-155.
- Gürsel, A., Şenel, E., Yaman, Ş. 2004.** Yoğurtta Maya ve Küf Gelişimine Karşı Biyokoruyucu Kültür Kullanımı. *Gıda*, 29(4): 283-289.
- Hajikhani, R., Beyathı, Y., Ashm, B. 2007.** Antimicrobial activity of enterococci strains isolated from white cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 60(2): 105-108.
- Hammad, A.M., Shimamoto, T., Shimamoto, T. 2014.** Genetic characterization of antibiotic resistance and virulence factors in *Enterococcus* spp. from Japanese retail ready-to-eat raw fish. *Food Microbiology*, 38: 62-66.
- Hammad, A.M., Hassan, H.A., Shimamoto, T. 2015.** Prevalence, antibiotic resistance and virulence of *Enterococcus* spp. in Egyptian fresh raw milk cheese. *Food Control*, 50: 815–820.
- Harris, L.J., Daeschel, M.A., Stiles, M.E., Klaenhammer, T.R. 1989.** Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 52(6): 384-387.
- Harwood, V.J., Whitlock, J., Withington, V. 2000.** Classification of Antibiotic Resistance Patterns of Indicator Bacteria by Discriminant Analysis: Use in Predicting the Source of Fecal Contamination in Subtropical Waters. *Applied And Environmental Microbiology*, 66(9): 3698–3704.
- Herranz, C., Casaus, P., Mukhopadhyay, S., Martinez, J.M., Rodriguez, J.M., Nes, I.F., Hernandez, P.E., Cintas, L.M. 2001.** Enterococcus faecium P21: a strain occurring naturally in dry-fermented sausages producing the class II bacteriocins enterocin A and enterocin B. *Food Microbiology*, 18: 115-131.
- Heydari, R., Bavandi, S., Javadian, S.R. 2015.** Effect of sodium alginate coating enriched with horsemint (*Mentha longifolia*) essential oil on the quality of bighead carp fillets during storage at 4°C. *Food Science & Nutrition*, 3(3): 188-194.
- Holtzel, A., Ganzle, M.G., Nicholson, G.J., Hammes, W.P., Jung, G. 2000.** The First Low Molecular Weight Antibiotic from Lactic Acid Bacteria: Reutericyclin, a New Tetramic Acid. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 39(15): 2766-2768.
- Holzappel, W.H., Geisen, R., Schillinger, U. 1995.** Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 24: 343-362.
- Hugas, M., Garriga, M., Aymerich, M.T. 2003.** Functionalty of enterococci in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 223-233.

- Izquierdo, E., Wagner, C., Marchioni, E., Aoude Werner, D., Ennahar, S. 2009.** Enterocin 96, a Novel Class II Bacteriocin Produced by *Enterococcus faecalis* WHE 96, Isolated from Munster Cheese. *Applied And Environmental Microbiology*, 75(13): 4273-4276.
- İşleroglu, H. 2006.** Yöresel peynirden izole edilen gram pozitif bir bakterinin ürettiği bakteriyosinin karakterizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, GÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tokat.
- Isleroglu, H., Yildirim, Z., Tokatli, M., Oncul, N., Yildirim, M. 2012.** Partial characterisation of enterocin KP produced by *Enterococcus faecalis* KP, a cheese isolate. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1): 90-97.
- Jeon, Y.J., Park, P.J., Kim, S.K. 2001.** Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate Polymers*, 44: 71-76.
- Jett, B.D., Huycke, M.M., Gilmore, M.S. 1994.** Virulence of Enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(4): 462-478.
- Ju, J., Wang, C., Qiao, Y., Li, D., Li, W. 2017.** Effects of Tea Polyphenol Combined with Nisin on the Quality of Weever (*Lateolabrax japonicus*) in the Initial Stage of Fresh-Frozen or Chilled Storage State. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(5): 543-552.
- Kang, J.H., Lee, M.S. 2005.** Characterization of a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* GM-1 isolated from an infant. *Journal of Applied Microbiology*, 98: 1169-1176.
- Katircioğlu, H., Beyath, Y. 2003.** Gökkuşluğu Alabalığı (*O. Mykiss* Richardson, 1846) ve Aynalı Sazandan (*C. Carpio* Linnaeus, 1758) İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Genel İnhibisyon ve Bakteriosin ve/veya Bakteriosin Madde Üretimi Açısından İncelenmesi. *Gıda*, 28(6): 589-594.
- Kaya, Y., Duyar, H.A., Erdem, M.E. 2004.** Balık Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığı İçin Önemi. *E.Ü.Su Ürünleri Dergisi*, 21(3-4): 365-370.
- Keeratipibul, S., Meethong, S., Techaruwichit, P., Thephuttee, N. 2010.** Prevalence of *Escherichia coli* and enterococci in a Thai frozen cooked chicken plant, and modeling of the cleaning and sanitizing procedure. *Food Control*, 21: 1104-1112.
- Kesenkaş, H., Gürsoy, O., Kınık, Ö., Akbulut, N. 2006.** Extension of Shelf Life of Dairy Products by Biopreservation: Protective Cultures. *Gıda*. 31(4): 217-223.
- Klaenhammer, T.R. 1993.** Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 12: 39-86.
- Klein, G. 2003.** Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 123-131.
- Koponen, O. 2004.** Studies of producer self-protection and nisin biosynthesis of *Lactococcus lactis*. *Ph.D. Thesis*, Faculty of Agriculture and Forestry, University of Helsinki Helsinki, Finland.
- Koral, G. 2011.** Bozadan İzole Edilen *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* GYL32 Suşu Tarafından Üretilen Bakteriyosinin Karakterizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- Kumar, R.S., Kanmani, P., Yuvaraj, N., Paari, K.A., Pattukumar, V., Arul, V. 2011.** Purification and characterization of enterocin MC13 produced by a potential aquaculture probiont *Enterococcus faecium* MC13 isolated from the gut of *Mugil cephalus*. *Can. J. Microbiol.*, 57: 993-1001.
- Kurt, Ş., Zorba, Ö. 2005.** Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları. *YYÜ Vet Fak Derg*, 16(1): 77-83.

- Laukova, A., Czikkova, S., Dobransky, T., Burdova, O. 1999.** Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* by enterocin CCM4231 in milk products. *Food Microbiology*, 16: 93-99.
- Lee, N.K., Paik, H.D. 2001.** Partial characterization of lacticin NK24, a newly identified bacteriocin of *Lactococcus lactis* NK24 isolated from Jeot-gal. *Food Microbiology*, 18: 17-24.
- Leroy, F., De Vuyst, L. 2010.** Bacteriocins of lactic acid bacteria to combat undesirable bacteria in dairy products. *Aust. J. Dairy Technol.*, 65(3): 143-149.
- Lewus, C.B., Kaiser, A., Montville, T.J. 1991.** Inhibition of Food-Borne Bacterial Pathogens by Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria Isolated from Meat. *Applied And Environmental Microbiology*, 57(6): 1683-1688.
- Liu, G., Griffiths, M.W., Wu, P., Wang, H., Zhang, X. 2011.** Enterococcus faecium LM-2, a multi-bacteriocinogenic strain naturally occurring in “Byaslag”, a traditional cheese of Inner Mongolia in China. *Food Control*, 22: 283-289.
- Lopez, M., Saenz, Y., Rojo Bezares, B., Martínez, S., del Campo, R., Ruiz Larrea, F., Zarazaga, M., Torres, C. 2009.** Detection of vanA and vanB2-containing enterococci from food samples in Spain, including *Enterococcus faecium* strains of CC17 and the new singleton ST425. *International Journal of Food Microbiology*, 133: 172-178.
- Losteinkit, C., Uchiyama, K., Ochi, S., Takaoka, T., Nagahisa, K., Shioya, S. 2001.** Characterization of Bacteriocin N15 Produced by *Enterococcus faecium* N15 and Cloning of the Related Genes. *Journal of Bioscience And Bioengineering*, 91(4): 390-395.
- Lyon, W.J., Glatz, B.A. 1991.** Partial Purification and Characterization of a Bacteriocin Produced by *Propionibacterium thoenii*. *Applied And Environmental Microbiology*, 57(3): 701-706.
- Maisner Patin, S., Forni, E., Richard, J. 1996.** Purification, partial characterisation and mode of action of enterococcin EFS2, an antilisterial bacteriocin produced by a strain of *Enterococcus faecalis* isolated from a cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 30: 255-270.
- Maldonado Barragan, A., Caballero Guerrero, B., Jimenez, E., Jimenez Diaz, R., Ruiz Barba, J.L., Rodriguez, J.M. 2009.** Enterocin C, a class IIb bacteriocin produced by *E. faecalis* C901, a strain isolated from human colostrum. *International Journal of Food Microbiology*, 133: 105-112.
- Marekova, M., Laukova, A., Skaugen, M., Nes, I. 2007.** Isolation and characterization of a new bacteriocin, termed enterocin M, produced by environmental isolate *Enterococcus faecium* AL41. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 34: 533-537.
- Masias, E., Picariello, G., Acuna, L., Chalon, M., Sesma, F., Morero, R., Saavedra, L., Minahk, C. 2014.** Co-expression and characterization of enterocin CRL35 and its mutant in *Escherichia coli* Rosetta. *Peptidomics*, 1: 30-42.
- McAuliffe, O., Ross, R.P., Hill, C. 2001.** Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. *FEMS Microbiology Reviews*, 25: 285-308.
- Messi, P., Bondi, M., Sabia, C., Battini, R., Manicardi, G. 2001.** Detection and preliminary characterization of a bacteriocin (plantaricin 35d) produced by a *Lactobacillus plantarum* strain. *International Journal of Food Microbiology*, 64: 193-198.
- Migaw, S., Ghrairi, T., Belguesmia, Y., Choiset, Y., Berjeaud, J.M., Chobert, J.M., Hani, K., Haertle, T. 2014.** Diversity of bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated from Mediterranean fish viscera. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 30(4): 1207–1217.

- Minahk, C.J., Farias, M.E., Sesma, F., Morero, R.D. 2000.** Effect of Enterocin CRL35 on *Listeria monocytogenes* cell membrane. *FEMS Microbiology Letters*, 192: 79-83.
- Ming, X., Daeschel, M.A. 1993.** Nisin Resistance of Foodborne Bacteria and the Specific Resistance Responses of *Listeria monocytogenes* Scott A. *Journal of Food Protection*, 56(11): 944-948.
- Mutlu, A., Bilgin, Ş. 2016.** Zeytin (*Olea europaea* L.) Yaprağı ve Yağ Gülü (*Rosa damascena* Mill.) Ekstraktlarının Buzdolabı Koşullarında Depolanan Sıcak Dumanlanmış Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Filetolarının Raf Ömrüne Etkisi. *Limnofish-Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 2(1): 19-29.
- Naidu, A.S., Bidlack, W.R., Clemens, R.A. 1999.** Probiotic Spectra of Lactic Acid Bacteria (LAB). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39(1): 13-126.
- Nalvuran, Z. 2013.** Peynirlerden İzole Edilen Farklı *Enterococcus* Türlerinin Bakteriyosin Üretme Yeteneklerinin ve Bakteriyosinlerinin Karakteristiklerinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, SÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Konya.
- Nes, I.F., Diep, D.B., Havarstein, L.S., Brurberg, M.B., Eijsink, V., Holo, H. 1996.** Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70: 113-128.
- Ogier, J.C., Serror, P. 2008.** Safety assessment of dairy microorganisms: The Enterococcus genus. *International Journal of Food Microbiology*, 126: 291-301.
- Ohmomo, S., Murata, S., Katayama, N., Nitisinprasart, S., Kobayashi, M., Nakajima, T., Yajima, M., Nakanishi, K. 2000.** Purification and some characteristics of enterocin ON-157, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* NIAI 157. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 81-89.
- O'Keeffe, T., Hill, C., Ross, R.P. 1999.** Characterization and Heterologous Expression of the Genes Encoding Enterocin A Production, Immunity, and Regulation in *Enterococcus faecium* DPC1146. *Applied And Environmental Microbiology*, 65(4): 1506-1515.
- Özmen Toğay, S., 2010.** Doğal Fermente Gıdalar ve Anne Sütünden Enterokokların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Bunların Probiyotik Kültür Olarak Kullanılabilme Potansiyelinin Araştırılması. *Doktora Tezi*, HÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Özmen Toğay, S., Temiz, A. 2011.** Gıda Kaynaklı Enterokokların Gıda ve İnsan Sağlığı Yönünden Önemi. *Gıda*, 36(5): 303-310.
- Parente, E., Hill, C. 1992.** Characterization of Enterocin 1146, a Bacteriocin from *Enterococcus faecium* Inhibitory to *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 55(7): 497-502.
- Parente, E., Ricciardi, A. 1999.** Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol*, 52: 628-638.
- Piard, J.C., Desmazeaud, M. 1991.** Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 1.Oxygen metabolites and catabolism end-products. *Lait*, 71: 525-541.
- Pinto, A.L., Fernandes, M., Pinto, C., Albano, H., Castilho, F., Teixeira, P., Gibbs, P.A. 2009.** Characterization of anti-*Listeria* bacteriocins isolated from shellfish: Potential antimicrobials to control non-fermented seafood. *Int J Food Microbiol.*, 129(1): 50-58.
- Poeta, P., Costa, D., Rojo Bezares, B., Zarazaga, M., Klibi, N., Rodrigues, J., Torres, C. 2007.** Detection of antimicrobial activities and bacteriocin structural genes in faecal enterococci of wild animals. *Microbiological Research*, 162: 257-263.

- Pugsley, A.P. 1993.** The Complete General Secretory Pathway in Gram-Negative Bacteria. *Microbiological Reviews*, 57(1): 50-108.
- Rahimabadi, E.Z., Rigi, M., Rahnema, M., Safari, R., Arshadi, A., Barani, M. 2012.** The Effects of Zataria multiflora Boiss Essential Oil and Nisin on Chemical Characteristics of Rainbow Trout Fillet Stored at 4°C. *Probiotics & Antimicro. Prot.*, 4: 116-121.
- Reddy, K.V.R., Aranha, C., Gupta, S.M., Yedery, R.D. 2004.** Evaluation of antimicrobial peptide nisin as a safe vaginal contraceptive agent in rabbits: in vitro and in vivo studies. *Reproduction*, 128: 117-126.
- Reunaen, J. 2007.** Lantibiotic Nisin and Its Detection Methods. *Master Thesis*, Faculty of Agriculture and Forestry, University of Helsinki Helsinki, Finland.
- Rodriguez, J.M., Martinez, M.I., Horn, N., Dodd, H.M. 2003.** Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 80: 101-116.
- Rosslund, E., Langsrud, T., Granum, P.E., Sorhaug, T. 2005.** Production of antimicrobial metabolites by strains of *Lactobacillus* or *Lactococcus* co-cultured with *Bacillus cereus* in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 98: 193-200.
- Riley, M.A., Wertz J.E. 2002.** Bacteriocins: Evolution, Ecology and Application. *Annu. Rev. Microbiol.*, 56: 117-137.
- Saavedra, L., Taranto, M.P., Sesma, F., Font de Valdez, G. 2003.** Homemade traditional cheeses for the isolation of probiotic *Enterococcus faecium* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 241-245.
- Savadogo, A., Ouattara, C.A.T., Bassole, I.H.N., Traore, S.A. 2006.** Bacteriocins and lactic acid bacteria - a minireview. *African Journal of Biotechnology*, 5(9): 678-683.
- Sawa, N., Wilaipun, P., Kinoshita, S., Zendo, T., Leelawatcharamas, V., Nakayama, J., Sonomoto, K. 2012.** Isolation and Characterization of Enterocin W, a Novel Two-Peptide Lantibiotic Produced by *Enterococcus faecalis* NKR-4-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(3): 900-903.
- Sabia, C., Manicardi, G., Messi, P., de Niederhausern, S., Bondi, M. 2002.** Enterocin 416K1, an antilisterial bacteriocin produced by *Enterococcus casseliflavus* IM 416K1 isolated from Italian sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 75: 163-170.
- Schelegueda, L.I., Gliemmo, M.F., Campos, C.A. 2012.** Antimicrobial Synergic Effect of Chitosan with Sodium Lactate, Nisin or Potassium Sorbate against the Bacterial Flora of Fish. *Journal of Food Research*, 1(3): 272-281.
- Serdaroğlu, M., Sapancı Özsümer, M. 2000.** Et ve Et Ürünlerinde Bakteriyosinlerin Önemi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 6(2-3): 211-217.
- Serdaroğlu, M., Deniz, E.E. 2001.** Balıklarda ve Bazı Su Ürünlerinde Trimetilamin (TMA) ve Dimetilamin (DMA) Oluşumunu Etkileyen Koşullar. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 18(3-4): 575-581.
- Settanni, L., Corsetti, A. 2008.** Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 121: 123-138.
- Sezer, Ç. 2007.** Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bakteriyosin Üretme Yeteneklerinin Araştırılması. *Doktora Tezi*, KÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars.
- Shamloofar, M., Hoseini, E., Kamali, A., Motalebi Moghanjoghi, A.A., Poorgholm, R. 2015.** Antibacterial activities of nisin encapsulated in zein and modified atmosphere

- packaging on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet during chilled storage 4°C. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14(2): 369-381.
- Shankar, N., Coburn, P., Pillar, C., Haas, W., Gilmore, M. 2004.** Enterococcal cytolyisin: activities and association with other virulence traits in a pathogenicity island. *Int. J. Med. Microbiol.*, 293: 609-618.
- Sidhu, K.S. 2003.** Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 38: 336-344.
- Sofra, C., Tsironi, T., Taoukis, P.S. 2018.** Modeling the effect of pre-treatment with nisin enriched osmotic solution on the shelf life of chilled vacuum packed tuna. *Journal of Food Engineering*, 216: 125-131.
- Soomro, A.H., Masud, T., Anwaar, K. 2002.** Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health – A Review. *Asian Network for Scientific information*, 1(1): 20-24.
- Stiles, M.E. 1996.** Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70: 331-345.
- Stiles, M.E., Holzappel, W.H. 1997.** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36: 1-29.
- Strompfova, V., Laukova, A., Simonova, M., Marcinakova, M. 2008.** Occurrence of the structural enterocin A, P, B, L50B genes in enterococci of different origin. *Veterinary Microbiology*, 132: 293-301.
- Şenel, E., Gürsel, A., Yaman, Ş., Tamuçay, B. 2006.** Set Tipi Yoğurdun Bazı Nitelikleri Üzerine Biyokoruyucu Kültür Kullanımının Etkisi. *Gıda*, 31(1): 21-26.
- Şimşek, Ö., Çon, A.H., Akçelik, M. 2007.** Endüstriyel Nisin Üretiminde Etkili Faktörler ve Model Sistemler. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 13(1): 57-67.
- Tagg, J.R., Dajani, A.S., Wannamaker, L.W. 1976.** Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria. *Bacteriological Reviews*, 40(3): 722-756.
- Tagg, J.R. 2004.** Prevention of streptococcal pharyngitis by anti-*Streptococcus pyogenes* bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) produced by *Streptococcus salivarius*. *Indian J Med Res*, 119: 13-16.
- Thomas, L.V., Wimpenny, J.W.T. 1996.** Investigation of the Effect of Combined Variations in Temperature, pH and NaCl Concentration on Nisin Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Applied And Environmental Microbiology*, 62(6): 2006-2012.
- Todorov, S.D., Dicks, L.M.T. 2006.** Effect of medium components on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* strains ST23LD and ST341LD, isolated from spoiled olive brine. *Microbiological Research*, 161: 102-108.
- Todorov, S.D., Wachsmann, M., Tome, E., Dousset, X., Destro, M.T., Dicks, L.M.T., Gombossy de Melo Franco, B.D., Vaz Velho, M., Drider, D. 2010.** Characterisation of an antiviral pediocin-like bacteriocin produced by *Enterococcus faecium*. *Food Microbiology*, 27: 869-879.
- Tuncer, M., Özden Tuncer, B., Tuncer, Y. 2014.** Çiğ Sütten İzole Edilen Enterocin B Üreticisi *Enterococcus faecalis* MYE58 Suşunun Güvenlik Değerlendirmesi. *Gıda*, 39(5): 275-282.
- Turan, H., Kaya, Y., Sönmez, G. 2006.** Balık Etinin Besin Değeri ve İnsan Sağlığındaki Yeri. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23(1-3): 505-508.

- Tükel, Ç., Avşaroğlu, M.D., Şimşek, Ö., Akçelik, M. 2006.** Isolation and Partial Characterization of a Novel Bacteriocin Produced by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* MC38. *Journal of Food Safety*, 27: 17-29.
- Türemiş, G.A. 2012.** Klinik ve Gıda Kaynaklı Enterokoklar Tarafından Üretilen Bakteriyosinlerin Bazı Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- Twomey, D., Ross, R.P., Ryan, M., Meaney, B., Hill, C. 2002.** Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and applications. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82: 165-185.
- Uludağ, H. 2015.** Klinik ve Gıda Kaynaklı Enterokoklar Tarafından Üretilen Bakteriyosinlerin Bazı Patogen Bakteriler Üzerine Antimikrobiyel Etkilerinin Karşılaştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- Uymaz, B. 2009.** Probiyotik Özellik Taşıyan Gıda ve İnsan Kaynaklı Laktobasillerin İzolasyonu Tanımlanması ve Bakteriyosin Üretim Yeteneklerinin Karakterizasyonu. *Doktora Tezi*, AÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Vadyvaloo, V., Arous, S., Gravesen, A., Hechard, Y., Chauhan Haubrock, R., Hastings, J.W., Rautenbach, M. 2004.** Cell-surface alterations in class IIa bacteriocin-resistant *Listeria monocytogenes* strains. *Microbiology*, 150: 3025-3033.
- Valenzuela, A.S., Benomar, N., Abriouel, H., Lopez, R.L., Veljovic, K., Canamero, M.M., Topisirovic, M.K.L., Galvez, A. 2009.** Virulence factors, antibiotic resistance, and bacteriocins in enterococci from artisan foods of animal origin. *Food Control*, 20: 381-385.
- Valenzuela, A.S., Benomar, N., Abriouel, H., Cañamero, M.M., Galvez, A. 2010.** Isolation and identification of *Enterococcus faecium* from seafoods: Antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances. *Food Microbiol.*, 27(7): 955-961.
- Van Tyne, D., Martin, M.J., Gilmore, M.S. 2013.** Structure, Function, and Biology of the *Enterococcus faecalis* Cytolysin. *Toxins*, 5: 895-911.
- Varlık, C. 1994.** Soğukta Depolanan Sardalyalarda Histamin Düzeyinin Belirlenmesi. *Gıda*, 19(2): 119-124.
- Wachsmann, M.B., Farias, M.E., Takeda, E., Sesma, F., de Ruiz Holgado, A.P., de Torres, R.A., Coto, C.E. 1999.** Antiviral activity of enterocin CRL35 against herpesviruses. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 12: 293-299.
- Yamamoto, Y., Togawa, Y., Shimosaka, M., Okazaki, M. 2003.** Purification and Characterization of a Novel Bacteriocin Produced by *Enterococcus faecalis* Strain RJ-11. *Applied And Environmental Microbiology*, 69(10): 5746-5753.
- Yaman, F., Esendal, Ö. 2004.** Balıklarda Probiyotik Kullanımı. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 2(6): 1-18.
- Yang, R., Johnson, M.C., Ray, B. 1992.** Novel Method To Extract Large Amounts of Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria. *Applied And Environmental Microbiology*, 58(10): 3355-3359.
- Yanglar, F. 2015.** Probiyotik Mikroorganizmaların Biyokoruyucu Özelliği. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 20(1): 119-130.
- Yıldırım, Z., İlk, Y., Yıldırım, M. 2017.** Enterosin KP'nin İnhibitör Aktivitesi Üzerine Sodyum Klorür Ve Asitliğin Etkisi. *OHÜ Müh. Bilim. Derg.*, 6(1): 38-45.

Yildirim, Z., Bilgin, H., Isleroglu, H., Tokatli, K., Sahingil, D., Yildirim, M. 2014. Enterocin HZ produced by a wild *Enterococcus faecium* strain isolated from a traditional, starter-free pickled cheese. *Journal of Dairy Research*, 81: 164-172.

Yoon, Y.C., Park, H.J., Lee, N.K., Paik, H.D. 2005. Characterization and Enhanced Production of Enterocin HJ35 by *Enterococcus faecium* HJ35 Isolated from Human Skin. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 10: 296-303.

Yüksel, E. 2018. Ankara İlinde Su Ürünleri Tüketim Tercihlerinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Isparta.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gözde SOYSAL
Doğum Yeri ve Tarihi : Üsküdar
Yabancı Dil : İngilizce, Fransızca

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Yalova Anadolu Lisesi (2012)
Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi (2016)
Yüksek Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi (2020)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : RADOHA NATÜREL GIDA LTD. ŞTİ. (11.2017-05.2019)

İletişim (e-posta) : soysalgozde@outlook.com

Yayımları

Karaalioglu, O., Özmen Toğay, S., Ay, M., Soysal, G., Çardak, M., Bağcı, U., Erol Tınaztepe, Ö. 2019. Çiğ balık örneklerinden izole edilen *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* suşlarının gıda güvenliği yönünden bazı özelliklerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.*, 76(3): 341-352.